

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE FARMÁCIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

Influência do processo inflamatório, estresse oxidativo e metais
sobre a cognição em idosos

MARÍLIA BAIERLE

PORTO ALEGRE, 2014

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE FARMÁCIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

Influência do processo inflamatório, estresse oxidativo e metais
sobre a cognição em idosos

Tese apresentada por **Marília Baierle** para
obtenção do TÍTULO DE DOUTOR em Ciências
Farmacêuticas

Orientadora: Profa. Dra. Solange Cristina Garcia

Porto Alegre, 2014

Tese apresentada ao Programa de Pós Graduação em Ciências Farmacêuticas, em nível de Doutorado da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul e avaliada em 18.08.2014 pela Banca Examinadora constituída por:

Profa. Dra. Andréia Buffon

Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS)

Profa. Dra. Fernanda Bueno Morrone

Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (PUC-RS)

Profa. Dra. Tatiana Emanuelli

Universidade Federal de Santa Maria (UFSM)

CIP - Catalogação na Publicação

Baierle, Marília
Influência do processo inflamatório, estresse oxidativo e metais sobre a cognição em idosos / Marília Baierle. -- 2014.
172 f.

Orientadora: Solange Cristina Garcia.

Tese (Doutorado) -- Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Farmácia, Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Porto Alegre, BR-RS, 2014.

1. Envelhecimento. 2. Declínio cognitivo. 3. Estresse oxidativo. 4. Inflamação. 5. Metais. I. Garcia, Solange Cristina, orient. II. Título.

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

Agradecimentos à CAPES (PROBRAL), pela bolsa concedida para realização do doutorado-sanduíche na Alemanha; ao CNPq, pela bolsa de estudos para o desenvolvimento deste trabalho; ao PPGCF; aos Lares de Idosos; e, ao Laboratório de Toxicologia (LATOX) desta Universidade que disponibilizou equipamentos e material necessários para a realização das análises laboratoriais na elaboração da presente tese.

AGRADECIMENTOS

A Deus, que por sua presença, luz e força sempre me abençoa e capacita para tudo aquilo que Ele me destina, superando todas as dificuldades.

À minha orientadora Profa. Dra. Solange Cristina Garcia pela oportunidade concedida, pela confiança, pelo incentivo e pelos ensinamentos.

Aos professores, Dra. Nicolle Breusing e Dr. Tilman Grune, pelo apoio na realização deste projeto.

Aos integrantes do LATOX que contribuíram para o desenvolvimento deste trabalho: Angela, Anelise, Bruna, Caroline, Elisa, Fernanda, Fernando, Gabriela, Guilherme, Juliano, Mariele, Natália, Rachel, Rafael, Sabrina, Sarah, Louise, Gustavo, Yuri. Aprendi muito com cada um de vocês! Muito obrigada pela colaboração nas diferentes etapas do estudo e acima de tudo pela amizade!

Aos psicólogos colaboradores deste estudo, Murilo e Suelen, e também à Profa. Dra. Clarissa Trentini pela importante contribuição realizada neste estudo.

Às estudantes do curso de Nutrição, Patrícia e Luiza, muito obrigada pelo auxílio na realização das avaliações antropométricas.

Às professoras Dra. Adriana Gioda, Dra. Marta Duarte e Dra. Tatiana Emanuelli pela colaboração no desenvolvimento desta pesquisa.

Aos lares de idosos e ao HCPA que aceitaram participar deste estudo. Agradeço pela receptividade e confiança e também por cederem espaço adequado para realização das entrevistas e coletas. Muito obrigada às equipes de saúde que estiveram sempre dispostas a colaborar.

À minha amiga Dra. Daniela Weber por todo auxílio prestado na Alemanha durante o período sanduíche do doutorado que realizei na Friedrich Schiller Universität Jena. Muito obrigada pelos ensinamentos, paciência, dedicação e por tornar a estadia no seu país tão agradável.

Aos meus avós, os primeiros idosos com quem eu tive contato, muito obrigada por todos os ensinamentos. Agradeço em especial às minhas avós que sempre desejaram o meu sucesso nos estudos em suas orações.

Aos meus pais, Eloir e Marinaide, pelo incentivo constante para alcançar todos os meus objetivos, pelo apoio em todos os momentos. Muito obrigada pelo carinho e confiança de sempre. Amo vocês!

Às minhas irmãs, Emília e Júlia, enfim a toda minha família, tios, tias, primas e demais familiares pelo incentivo, pela confiança e apoio sempre! Amo vocês!

Ao meu noivo, Vinicius, pelo carinho, atenção e dedicação, e principalmente pela paciência que teve comigo. Obrigada por fazer parte da minha vida. Te amo!

A todos os meus amigos e amigas que com certeza tornaram esta jornada muito mais divertida apesar do pouco tempo que lhes foi dedicado durante este projeto. Agradeço em especial à minha amiga Lidiane que sempre torceu por mim e vibrou comigo em cada conquista!

Aos professores, Dra. Tatiana Emanuelli, Dra. Fernanda Bueno Morrone, Dra. Andréia Buffon e Dr. Diogo André Pilger por aceitarem compor a banca examinadora desta tese.

À UFRGS e ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas pela oportunidade de realizar este curso.

Ao CNPQ e à CAPES pela concessão das bolsas de estudo.

Enfim, obrigada a todos que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho!

“Ageing seems to be the only available way to live a long life.”

Daniel François Auber

RESUMO

A longevidade tem aumentado globalmente em razão das melhorias nas condições de saúde, sanitárias, sociais, entre outras. Nesta linha, há um aumento da população idosa, inclusive em países em desenvolvimento. Sabe-se que o envelhecimento é um fenômeno multifatorial, assim, as possíveis influências regionais sobre este processo necessitam de estudos. Os efeitos do status oxidativo, micronutricional e inflamatório sobre o declínio cognitivo relacionado à idade se apresentam como uma importante linha de estudos. Além disso, outra influência sobre a saúde dos idosos pode ser a institucionalização. Portanto, no presente estudo se propôs avaliar idosos institucionalizados e não-institucionalizados e a possível influência do estresse oxidativo, do processo inflamatório e dos níveis de metais sobre a função cognitiva. Os resultados demonstraram aumento do dano oxidativo a lipídios e proteínas, nos idosos institucionalizados, assim como uma significativa redução dos antioxidantes em comparação com os não institucionalizados. Vale ressaltar que, em geral, os micronutrientes estavam dentro dos valores de referência para adultos, porém estes valores podem não ser adequados para as necessidades no envelhecimento. Por outro lado, as citocinas pró-inflamatórias se encontraram elevadas nos institucionalizados comparados aos não-institucionalizados, sendo associadas com o status oxidativo. Além disso, os idosos institucionalizados apresentaram pior desempenho cognitivo comparado aos não-institucionalizados, o qual foi associado ao aumento de proteínas carboniladas (PCO) e citocinas pró-inflamatórias e à diminuição de glutathione peroxidase (GPx). De fato o sistema nervoso é mais vulnerável ao estresse oxidativo e a maior expressão de citocinas pode alterar a expressão de genes relacionados com funções cognitivas. Adicionalmente, o licopeno apresentou correlação positiva com a cognição, no teste de nomeação de Boston. O modelo escolhido na análise multivariada demonstrou que antioxidantes endógenos apresentaram um papel crítico no declínio cognitivo, por outro lado, não se pode desconsiderar o envolvimento de outros fatores nesse processo. Em relação à avaliação da proteína tiólica, δ -aminolevulinato desidratase (ALA-D) sanguínea, foi observada reduzida atividade durante o envelhecimento. O declínio cognitivo, principalmente das funções de memória de trabalho e memória visual, também foi associado à diminuição da atividade da ALA-D, que ao ocorrer leva ao acúmulo de seu substrato, o ácido δ -aminolevulínico

(ALA), o qual é considerado neurotóxico. Portanto, a ALA-D parece estar ligada à fisiopatologia do declínio cognitivo. Em geral, os níveis de metais tóxicos estavam acima dos valores recomendados pela OMS e através dos modelos de regressão pode-se sugerir que eles atuam como fatores adicionais no declínio cognitivo relacionado à idade, uma vez que podem afetar diretamente a cognição, como foi demonstrado para o V e Hg, ou ainda, podem impedir o correto funcionamento da enzima ALA-D. Por outro lado, o elemento essencial Se pode ser um importante aliado na preservação da capacidade cognitiva. Adicionalmente, quando os idosos foram comparados conforme seu desempenho no Mini-Exame do Estado Mental (MEEM) utilizando pontos de corte adequados à escolaridade, observou-se que aqueles que tinham declínio cognitivo apresentaram maiores níveis de ácidos graxos 14:0, 16:0, 16:1n-7 e menores níveis de 22:0, 24:1n-9, 22:6n-3 (DHA), bem como do total de ácidos graxos poliinsaturados. A relação n-6/n-3 foi elevada em ambos os grupos de estudo, com e sem declínio cognitivo, enquanto que altos níveis de homocisteína (Hcy), proteína C reativa (PCR) e perfil lipídico foram observados no grupo com declínio. Além disso, uma melhor função cognitiva foi associada aos ácidos graxos ômega 3, principalmente ao DHA, e também ao ácido graxo 24:1n-9. Em contraste, quanto maiores eram os níveis dos ácidos graxos 14:0, 16:0, 16:1n-7, da relação n-6/n-3 e de Hcy, menor era o desempenho cognitivo nos diferentes testes utilizados. Além disso, os ácidos graxos ômega 3, particularmente o DHA, foram associados inversamente com o risco cardiovascular, avaliado pelos níveis de homocisteína. Cada ácido graxo atua de forma específica, portanto, uma ingestão equilibrada de nutrientes essenciais, como por exemplo, ômega 3 e ômega 6, é essencial para a saúde, evitando o prejuízo de um estado pró-inflamatório permanente e influenciando grandemente as funções do sistema nervoso, bem como a saúde vascular. Sendo assim, o dano oxidativo excessivo e inflamatório pode ser sugerido como um fator de risco para o declínio cognitivo que acaba culminando no desenvolvimento de desordens neurológicas. Em conclusão, os dados obtidos no presente estudo poderão auxiliar no melhor entendimento das alterações fisiopatológicas do declínio cognitivo associado à idade, condição determinante da redução da qualidade de vida durante o envelhecimento.

Palavras-Chave: Envelhecimento, declínio cognitivo, inflamação, estresse oxidativo, ALA-D, metais, ácidos graxos.

ABSTRACT

Influence of inflammation, oxidative stress and metals on cognition in elderly

Longevity has increased globally due to improvements in health, sanitation and social conditions, among others. In this line, there is an increase in the elderly population, even in developing countries. It is known that aging is a multifactorial phenomenon; thus, further studies about the possible regional influences on this process are needed. The oxidative, micronutritional and inflammatory status on cognitive decline are presented as an important line of studies. Moreover, the institutionalization could be another influence on the elderly health. Therefore, the present study aimed to evaluate institutionalized and non-institutionalized elderly and the possible influence of oxidative stress, inflammation and levels of metals on cognitive function. The results demonstrated increased oxidative damage to lipids and proteins, in institutionalized elderly, as well as a significant decrease of antioxidants. It is noteworthy that, in general, the micronutrients were within the reference values for adults; however, these values may not be suitable for the aging needs. On the other hand, pro-inflammatory cytokines were elevated in the institutionalized compared to non-institutionalized elderly, being associated with oxidative status. Furthermore, the institutionalized elderly showed poorer cognitive performance compared to non-institutionalized, which was associated with increased protein carbonyls (PCO) and pro-inflammatory cytokines and decreased glutathione peroxidase (GPx). In fact the nervous system is more vulnerable to oxidative stress and the increased expression of cytokines can modify the expression of genes related to cognitive functions. Additionally, lycopene was positively correlated with cognition, in the Boston's Appointment Test. The multiple linear regression model chosen demonstrated that endogenous antioxidants showed a critical role in cognitive decline, on the other hand, it cannot be ignored the involvement of other factors in this process. Regarding the thiol protein assessment, blood δ -Aminolevulinate dehydratase (ALA-D) showed reduced activity in aging. The cognitive decline, mainly the functions of working memory and visual memory, was also associated with decreased ALA-D activity, which leads to accumulation of δ -aminolevulinic acid (ALA), which is known as a neurotoxic substrate.

Therefore, ALA-D appears to be linked to the pathophysiology of cognitive decline. In general, the levels of toxic metals were above the recommended values by WHO. Through regression models it may be suggested that they act as additional factors in age-related cognitive decline, since they can directly affect cognition, as demonstrated to V and Hg, or still, prevent proper operation of ALA-D enzyme. On the other hand, the essential element Se may be an important tool for the preservation of cognitive ability. Additionally, when the elderly were compared according to their performance on the Mini-Mental State Examination (MMSE) using appropriate cutoffs for scolarity, it was observed that those who had cognitive impairment presented higher levels of 14:0, 16:0, 16:1n-7 fatty acids and lower levels of 22:0, 24:1n-9, 22:6n-3 (DHA), as well as total of polyunsaturated fatty acids. The n-6/n-3 ratio was high in both study groups, with and without cognitive decline, while higher levels of homocysteine (Hcy), C-reactive protein (CRP) and lipid profile were observed in the group with decline. In addition, better cognitive function was associated with omega-3 fatty acids, mainly DHA, and also with the 24:1n-9 fatty acid. In contrast, higher levels of 14:0, 16:0, 16:1n-7 fatty acids, n-6/n-3 ratio and Hcy were associated with lower performance on different cognitive tests. Omega 3 fatty acids, particularly DHA, were inversely associated with cardiovascular risk, measured by homocysteine levels. Each fatty acid acts in a specific way, so a balanced intake of essential nutrients, such as omega 3 and omega 6, is essential to health, avoiding the harmful of a permanent pro-inflammatory state and greatly influencing the nervous system functions and vascular health. Thus, excessive oxidative damage and inflammation may be suggested as risk factors for cognitive decline culminating in the development of neurological disorders. In conclusion, the data obtained in this study may help to better understanding the pathophysiological alterations of age-related cognitive decline, a determining factor to reduced quality of life during aging.

Keywords: Aging, cognitive decline, inflammation, oxidative stress, ALA-D, metals, fatty acids.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Dados populacionais em âmbito nacional, estadual e municipal	29
---	----

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Processo de peroxidação lipídica	35
Figura 2. Sistema antioxidante enzimático endógeno	41
Figura 3. Sistema de regeneração do α -tocoferol	43

LISTA DE ANEXOS

ANEXO A – Aceite do Comitê de Ética em Pesquisa UFRGS	161
ANEXO B – Aceite do Comitê de Ética em Pesquisa HCPA	162
ANEXO C – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido para Idosos	163
ANEXO D – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido para Jovens	165
ANEXO E – Questionário de Avaliação Nutricional e Social	167

LISTA DE ABREVIATURAS

AA – Ácido araquidônico

Al – Alumínio

ALA – Ácido δ -aminolevulínico

ALA-D – δ -aminolevulinato desidratase

AMPC – Adenosina 3',5'-monofosfato cíclico

As – Arsênio

Cd – Cádmio

CEP – Comitê de Ética em Pesquisa

CERAD – Consórcio para estabelecer um registro para a doença de Alzheimer

Cr – Cromo

Cu – Cobre

DNA – Ácido desoxirribonucléico

DHA – Ácido docosahexaenóico

DTT – Ditioneitol

EPA – Ácido eicosapentaenóico

ERO – Espécies Reativas de Oxigênio

ERN – Espécies Reativas de Nitrogênio

Fe – Ferro

GABA – Ácido gama-aminobutírico

GPx – Glutathione peroxidase

GR - Glutathione Redutase

GSH – Glutathione reduzida

GSSG – Glutathione dissulfeto

HCPA – Hospital de Clínicas de Porto Alegre

Hcy – Homocisteína

Hg – Mercúrio

HHcy – Hiperhomocisteinemia

IFN- γ – Interferon gama

IL-1 – Interleucina 1

IL-6 – Interleucina 6

IL-10 – Interleucina 10
IMC – Índice de Massa Corporal
IPEA – Instituto de Pesquisa Econômica Aplicada
LA – Ácido linoleico
LDL – Lipoproteína de baixa densidade
LNA – Ácido α -linolênico
MDA – Malondialdeído
MEEM – Mini-Exame do Estado Mental
Mn – Manganês
Mn-SOD – Superóxido dismutase mitocondrial
MUFAs – Ácidos graxos monoinsaturados
n-3 – Ômega 3
n-6 – Ômega 6
NADPH – Nicotinamida adenina dinucleotídeo
Ni – Níquel
Pb – Chumbo
PCO – Proteínas carboniladas
PCR – Proteína C reativa
PSF – Programa de Saúde da Família
PSSG – Glutathiona ligada a proteínas
PUFAs – Ácidos graxos poliinsaturados
Se – Selênio
SEM – Erro Padrão da Média
-SH – Grupos sulfidrílicos
SNC – Sistema Nervoso Central
SOD – Superóxido dismutase
SUS – Sistema Único de Saúde
TNF- α – Fator de Necrose Tumoral alfa
UFNPA – Fundo de População das Nações Unidas
V – Vanádio
VR – Valor de Referência
Zn – Zinco

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	27
1.1 Envelhecimento	27
1.1.1 Envelhecimento populacional.....	27
1.1.2 Déficit Cognitivo	29
1.1.3 Doenças associadas.....	30
1.1.4 Institucionalização de Idosos.....	31
1.2 Teorias Biológicas do Envelhecimento	33
1.3 Estresse Oxidativo	34
1.3.1 Danos oxidativos aos componentes celulares.....	34
1.3.2 Defesa antioxidante endógena.....	38
1.3.3 Defesa antioxidante exógena.....	41
1.4 Inflamação em Idosos	48
2. OBJETIVOS	51
2.1 Objetivo Geral.....	51
2.2 Objetivos Específicos.....	51
3. CAPÍTULO I	53
Relationship between inflammation and oxidative stress and cognitive decline in institutionalized elderly	55
4. CAPÍTULO II	89
Are delta-aminolevulinate dehydratase inhibition and metal concentrations additional factors for the age-related cognitive decline?	91
5. CAPÍTULO III	111
Fatty acid status and its relationship to cognitive decline and homocysteine levels in the elderly	113
6. DISCUSSÃO	133
7. CONCLUSÕES	141
8. REFERÊNCIAS	143
9. ANEXOS	161

APRESENTAÇÃO

De acordo com as normas vigentes no Regimento do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, a presente tese foi redigida na forma de encarte de publicações e está organizada em seções dispostas da seguinte maneira:

A **INTRODUÇÃO** apresenta o embasamento teórico, sendo seguida pelos **OBJETIVOS**, que nortearam o desenvolvimento deste trabalho. Os **Métodos**, **Resultados** e **Discussão** assim como as **Referências específicas** encontram-se no corpo de cada manuscrito, os quais estão apresentados na forma de **CAPÍTULOS I, II e III**. Os manuscritos encontram-se estruturados de acordo com as normas dos periódicos científicos para os quais foram submetidos. A seção **DISCUSSÃO** contém uma interpretação geral dos resultados obtidos nos três manuscritos. A seção **CONCLUSÕES** aborda as conclusões gerais dos principais resultados da tese. Por fim, a seção **REFERÊNCIAS** lista a bibliografia utilizada nas seções Introdução e Discussão da presente tese.

1. INTRODUÇÃO

1.1 Envelhecimento

O envelhecimento é um fenômeno natural e universal, no qual se observa a perda de funcionalidade progressiva com a idade (Miwa et al., 2008), com múltiplos aspectos que transcendem os limites puramente biológicos. É fundamental para seu entendimento, uma avaliação multidimensional do idoso, sem desconsiderar a complexa inter-relação entre os aspectos físicos, psicológicos, além das condições socioeconômicas e fatores ambientais.

1.1.1. Envelhecimento populacional

O envelhecimento tem se tornado uma preocupação mundial, motivo de muita discussão nos últimos tempos. De acordo com o Fundo de População das Nações Unidas, 810 milhões de pessoas tinham 60 anos ou mais no ano de 2012, constituindo 11,5% da população global (UNFPA, 2012). Projeta-se que esse número alcance 1 bilhão em menos de 10 anos e, que duplique em 2050, alcançando 2 bilhões de pessoas ou 22% da população global (UNFPA, 2012; Huerta et al., 2006). Na América do Sul, mais especificamente no Brasil, haverá um aumento no número de idosos, de 14 milhões para 64 milhões no período entre o ano 2000 e 2050 (United Nations, 2004), conforme a Organização Mundial da Saúde (OMS) (Huerta et al., 2006). Além disso, estima-se que em 2025, entre os dez países com maior número de idosos, cinco sejam dos chamados “países em desenvolvimento” (United Nations, 2004).

Adicionalmente, em 1980, a expectativa média de vida no Brasil era de 62,5 anos, aumentando para 68,3 anos para homens e 76,4 para mulheres em 2007, colocando o Brasil no 88º lugar em expectativa de vida de acordo com a OMS (Huerta et al., 2006). Atualmente, com base no Censo realizado em 2010, a expectativa de vida no Brasil subiu para 73,1 anos, passando para 69,4 e 77 anos para homens e mulheres, respectivamente (IBGE, 2010). Na América do Sul, em países como Argentina, Uruguai e Chile, a expectativa de vida é superior a 74 anos. Aliás, em países desenvolvidos, como a Alemanha, a expectativa de vida é de aproximadamente 79

anos (United Nations, 2004). Tendo em vista os diversos índices, destaca-se o envelhecimento como uma importante questão social e de saúde pública.

Embora exista maior preocupação com o envelhecimento populacional, países em desenvolvimento, como o Brasil, ainda não apresentam políticas totalmente adequadas que proporcionem uma experiência positiva de longevidade caracterizada por um envelhecimento ativo, com preservação de capacidades individuais e do potencial de desenvolvimento do indivíduo (United Nations, 2004; Assis et al., 2004). Programas voltados para a população, como a Estratégia de Saúde da Família (ESF), atualmente executado no Brasil, tem como foco principal a família no ambiente em que vive, permitindo uma compreensão ampliada do processo saúde/doença (Brasil, 1997). No contexto da Estratégia de Saúde da Família, a atenção ao idoso baseia-se em medidas promocionais de proteção específica, de identificação precoce de seus agravos mais frequentes e sua intervenção, bem como, em medidas de reabilitação voltadas a evitar a sua apartação do convívio familiar e social. Cabe destacar também a existência da Política Nacional de Saúde do Idoso no Brasil que, desde 1999, assume como principal problema relacionado ao envelhecimento, a perda da capacidade funcional, como consequência da evolução de enfermidades e do estilo de vida, afetando por completo a vida dos idosos (Brasil, 2006).

É importante notar que devido à grande extensão territorial do Brasil, diferenças regionais são observadas e têm implicações sociais e econômicas, influenciando no processo de envelhecimento populacional. Sabe-se que a expectativa de vida aumenta em razão de melhorias nas condições sanitárias, nos avanços da medicina, nos cuidados com a saúde, na nutrição, no ensino e no bem-estar econômico (Suzuky, 2003). Visto que o envelhecimento pode ser consequência do desenvolvimento, e que o Rio Grande do Sul apresenta melhores condições sócio-econômicas, esse fenômeno torna-se mais evidente, sendo este o Estado com maior proporção de idosos do País (Brasil, 2011). Dados populacionais são mostrados na Tabela 1.

Tabela 1. Dados populacionais em âmbito nacional, estadual e municipal.

	População Total	População de Idosos	% de Idosos
Brasil	190.755.799	20.590.599	10,8
Rio Grande do Sul	10.693.929	1.459.597	13,6
Porto Alegre	1.409.351	211.896	15,0

Fonte: www.datasus.gov.br, acessado em 01/06/2014.

1.1.2 Déficit cognitivo

A cognição tem importância valiosa na manutenção da saúde física e da qualidade de vida, bem como na capacidade dos idosos em adquirir novas informações e habilidades no ambiente em que vivem (UNFPA e HelpAge International, 2012). O avanço da idade é muitas vezes acompanhado por declínio cognitivo e funcional (UNFPA e HelpAge International, 2012), o que é considerado normal por alguns autores; no entanto, outros defendem a hipótese de que o estado "normal", não seria caracterizado pela perda de funções cognitivas durante o envelhecimento, pelo menos, em indivíduos com boa qualidade de vida (UNFPA e HelpAge International, 2012; Xavier, 1999).

As desordens neurodegenerativas são um grupo heterogêneo de condições patológicas em que áreas específicas do sistema nervoso central (SNC) se deterioram progressivamente, resultando em deficiências cognitivas ou de movimento (Bales et al., 2009). Em geral, síndromes demenciais são caracterizadas pela diminuição progressiva de memória, linguagem, capacidade de reconhecer e identificar objetos, orientação, organização, planejamento, mudanças de comportamento ou de personalidade, além de prejuízo no desenvolvimento psicossocial (Machado et al., 2011). Assim, a demência representa um problema significativo de saúde pública (Machado et al., 2011), uma vez que o declínio cognitivo interfere de modo geral na execução das atividades sociais e ocupacionais, progredindo para a perda da capacidade funcional e autonomia (Beckert et al., 2012), levando conseqüentemente a uma redução da qualidade de vida na velhice (Machado et al., 2011). Funções cognitivas específicas podem ser avaliadas por meio de testes cognitivos validados.

Adicionalmente, o desenvolvimento de desordens neurodegenerativas também sofre influência de fatores ambientais. Nesse sentido, o acúmulo de alumínio no cérebro tem sido associado com o desenvolvimento de placas beta amilóides e emaranhados neurofibrilares na doença de Alzheimer (Carpenter, 2001), no entanto, existem controvérsias sobre o acúmulo desse metal como possível causador da doença, uma vez que a sua entrada facilitada no cérebro pode ocorrer como consequência da própria doença (Klaassen e Watkins, 2010). De fato, diversos metais tóxicos podem afetar a função neuronal, incluindo chumbo, mercúrio, níquel, cromo, entre outros (Carpenter, 2001; Chervona et al., 2012). A neurotoxicidade resultante da exposição ao excesso de chumbo tem sido relatada em diversos estudos (Rajan et al., 2008; Weuve et al., 2006). O efeito direto deste metal em sinapses centrais ou periféricas (Krieg et al., 2009) foi associado com um menor desempenho cognitivo em crianças (Canfield et al., 2003) e em mulheres idosas (Muldoon et al., 1996), mesmo em concentrações abaixo do nível atual de preocupação, que é de $100 \mu\text{g.L}^{-1}$ (Canfield et al., 2003). Isso acontece também com o arsênio, que mesmo a níveis baixos (Tyler e Allan, 2014), tem sido sugerido como um fator de risco para a reduzida capacidade cognitiva (Syed et al., 2012). Metais como mercúrio, chumbo e arsênio conduzem ao declínio cognitivo devido a um conjunto de ações subcelulares, incluindo o bloqueio de enzimas dependentes de cálcio, a interferência no transporte de aminoácidos e de íons, interferência sobre a sinalização glutamatérgica e colinérgica e sobre a liberação de neurotransmissores, bem como o desacoplamento da fosforilação oxidativa (Carpenter, 2001; Power et al., 2014; Tyler e Allan, 2014). Em geral, a promoção do estresse oxidativo com aumento de espécies reativas, é o mecanismo comum à maioria dos metais. Por outro lado, o selênio, um elemento essencial, é um importante antioxidante (Gao et al., 2008) e baixos níveis deste elemento traço têm sido associados ao aumento do risco de várias doenças (WHO, 1996).

1.1.3 Doenças associadas

As doenças crônicas não transmissíveis representam os principais problemas relacionados com o envelhecimento, afetando a maioria dos idosos. Tais desordens, como as neurodegenerativas e cardiovasculares, contribuem para o desenvolvimento de

incapacidades associadas ao envelhecimento, aumentando o risco de hospitalização e piorando a qualidade de vida do idoso (Rosa et al., 2003; Vellas et al., 1992). Dentre as principais causas de morbidade e mortalidade da população idosa no Brasil estão as doenças neoplásicas, cerebrovasculares, isquêmicas cardíacas, hipertensivas, diabetes melito e pneumonia, que atingem tanto homens quanto mulheres (Freitas e Py, 2011). Além dessas, estima-se um aumento na prevalência de doença de Alzheimer, depressão e osteoporose, problemas que requerem cuidados especializados, muitas vezes ausentes em países em desenvolvimento (Machado et al., 2011).

As doenças crônico-degenerativas apresentam em comum o envolvimento de processos inflamatórios, uma vez que há um aumento de mediadores inflamatórios circulantes nesses casos, característica também relacionada à imunossenescência, a qual é responsável ainda pela redução na capacidade de resposta imune diante de uma infecção (Freitas et al., 2011).

Problemas neurológicos, como a demência, podem apresentar inicialmente déficit cognitivo leve o que pode ser diagnosticado por meio de testes cognitivos (Beckert et al., 2012). Considerando que essas patologias crônicas têm alto grau de impacto na qualidade de vida dos idosos, o diagnóstico precoce torna-se crucial.

Ademais, uma vez que a expectativa de vida continua a aumentar, torna-se importante não só entender os mecanismos ligados a esta longevidade prolongada, mas principalmente os complexos fatores que tornam os seres humanos mais vulneráveis às patologias e às doenças neurodegenerativas (Mora, 2013).

1.1.4 Institucionalização de idosos

Além de dificuldades econômicas, o processo de envelhecimento é influenciado também por mudanças no estilo de vida, que incluem perdas física, psicológica e social (Freire-Júnior e Tavares, 2004; Essama-Tjani et al., 2000). Isto se torna particularmente importante em grupos de idosos que geralmente acabam sendo privados de seus projetos de vida, exemplificado pelos institucionalizados, pois se encontram afastados da família, da casa, dos amigos, das relações nas quais sua história de vida foi construída e nas quais as doenças crônicas não transmissíveis são, com raras exceções, os

motivos principais de suas internações em Instituições de Longa Permanência para Idoso (Freire-Júnior et al., 2004). Cabe ressaltar que as demências estão associadas a um maior grau de dependência do idoso, requerendo maiores cuidados, e isso conseqüentemente acaba levando à internação. O próprio processo de institucionalização, rejeitado por muitos, acarreta ao idoso uma redução da sua autonomia (Estrada et al., 2011).

Além disso, as transformações acentuadas nos arranjos familiares, na nupcialidade e na maior participação da mulher no mercado de trabalho, em um contexto de fecundidade baixa, têm cada vez mais requerido que o setor público e o mercado privado dividam com a família a responsabilidade de cuidar do idoso dependente (IPEA, 2011). Esta é uma realidade não só brasileira, mas do mundo moderno.

No Brasil, segundo pesquisa realizada pelo Instituto de Pesquisa Econômica Aplicada (IPEA) entre 2006 e 2010, existiam apenas 4 mil instituições atendendo cerca de 100 mil idosos (IPEA, 2011), número este reduzido frente ao total de idosos brasileiros. Os residentes constituíam menos de 1% da população idosa brasileira, indicando que a cobertura dessa modalidade de atendimento é bastante baixa, se comparada aos padrões internacionais (IPEA, 2011). Além disso, no Brasil a grande maioria das instituições (65%) é filantrópica, seja religiosa ou leiga (IPEA, 2011).

De fato, a residência em instituições de longa permanência para idosos não é uma prática comum nos países do hemisfério sul (IPEA, 2011), entretanto, países como o Japão que possuem uma maior longevidade também possuem maior número de instituições que oferecem cuidados especializados, além de programas de previdência que dão suporte a tal serviço (Souza, 2007). Já em Portugal, na Europa, existem lares chamados “centros de dia” onde o idoso dependente ou semidependente passa o dia com toda a assistência, mantendo-se ativo física e socialmente, mas vive em casa com a família (Paúl, 1997). Serviços de apoio domiciliar também são muito utilizados na Europa, no entanto possuem custo elevado e, atualmente, há uma falta de pessoas qualificadas para tomarem conta dos idosos (Souza, 2007), assim como acontece no Brasil.

1.2 Teorias Biológicas do Envelhecimento

Muitas teorias têm sido propostas para explicar o fenômeno do envelhecimento, também, devido ao grande número, autores sugerem diferentes classificações para um melhor entendimento (Trindade et al., 2013). De forma geral, pode-se destacar o grupo de teorias genéticas, que incluem a teoria dos telômeros, baseada no encurtamento dos telômeros devido à ausência de atividade da enzima telomerase; a teoria neuroendócrina, baseada no declínio de diversos hormônios do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal que controlam o metabolismo em geral; e a teoria imunológica, a qual aborda declínios em vários aspectos da proteção imunológica, incluindo a formação de auto-anticorpos; entre outras (Mota et al., 2004; Miwa et al., 2008; Trindade et al., 2013).

Outro grupo de teorias bastante estudado corresponde às teorias estocásticas, neste grupo destacam-se a teoria das mutações somáticas, baseada em alterações no material genético geradas por fatores externos; a teoria do erro-catástrofe, na qual erros sequenciais na síntese de proteínas levam a diminuição progressiva da fidelidade; e entre outras teorias, a teoria do estresse oxidativo, fundamentada no acúmulo de danos oxidativos em diferentes macromoléculas causados por espécies reativas de oxigênio (ERO) e nitrogênio (ERN) (Harman, 1992; Ashok e Ali, 1999; Mota et al., 2004). Entre todas as teorias, esta última tem sido relatada na maioria dos estudos publicados (Trindade et al., 2013; Sastre et al., 2003; Miwa et al., 2008).

Atualmente, as teorias evolutivas de envelhecimento são incapazes de explicar de forma convincente como e por que a vida tem uma duração limitada (Trindade et al., 2013). De fato, há dúvidas se uma única teoria poderia explicar todos os mecanismos do envelhecimento (Ashok et al., 1999). No entanto, uma suposta participação do estresse oxidativo parece ser algo em comum nas diversas teorias, pois tem sido referida na maioria dos mecanismos relatados como possíveis causas do processo de envelhecimento (Mota et al., 2004). Por exemplo, o mecanismo pelo qual a restrição calórica tem relação com a duração da vida também converge para o estresse oxidativo, uma vez que uma maior ingestão calórica e taxa metabólica gera altas quantidades de ERO, causando danos ao DNA (Ashok et al., 1999).

1.3 Estresse oxidativo

O estresse oxidativo corresponde ao desequilíbrio entre as espécies reativas oxidantes e as defesas antioxidantes (Finkel e Holbrook, 2000), causado pelo aumento na produção de espécies reativas acompanhado ou não por uma diminuição das defesas antioxidantes. Este desequilíbrio causa danos oxidativos aos componentes celulares, e, ao se acumularem, podem resultar em alterações celulares responsáveis pela redução da capacidade funcional e pelo aumento do risco de doenças (Finkel et al., 2000; Berr et al., 1998). Os principais alvos de danos oxidativos são as macromoléculas celulares, que incluem os lipídios, as proteínas e o DNA.

Um grande número de espécies reativas de oxigênio e nitrogênio têm sido descritas como existentes nos sistemas biológicos. Tais espécies se caracterizam por serem agentes oxidantes altamente reativos, e algumas delas, denominadas anteriormente como radicais livres, possuem um ou mais elétrons desemparelhados na sua órbita externa (Gilham et al., 1997), o que lhes confere alta instabilidade e reatividade. Dentre as espécies reativas mais relevantes estão superóxido ($O_2^{\cdot-}$), hidroxila (OH^{\cdot}), peroxila (ROO^{\cdot}), oxigênio singlete ($^{\cdot}O_2$), peróxido de hidrogênio (H_2O_2), óxido nítrico (NO^{\cdot}), óxido nitroso, peroxinitrito ($ONOO^{\cdot}$), entre outros (Miwa et al., 2008). Cabe ressaltar que as espécies reativas produzidas normalmente em condições fisiológicas são moléculas essenciais de sinalização que medeiam respostas imunológicas, na defesa contra infecções e na indução da apoptose, porém quando em excesso caracterizam condições de estresse oxidativo (Halliwell, 1994; Biesalski, 2002).

1.3.1 Danos oxidativos aos componentes celulares

O ataque de espécies reativas aos lipídios desencadeia um processo chamado peroxidação lipídica. Tal processo consiste em uma reação em cadeia que se inicia com o sequestro do hidrogênio de um ácido graxo polinsaturado. Supõe-se que o superóxido em sua forma protonada (HO_2^{\cdot}) seja a principal espécie reativa envolvida na etapa de iniciação da reação (Miwa et al., 2008). Então, em seguida os radicais de carbono da posição alílica do ácido graxo polinsaturado (radical lipídico) reagem com o

oxigênio molecular, formando assim, um radical peroxila ($\text{ROO}\cdot$), que por sua vez, pode sequestrar novo hidrogênio de outro ácido graxo polinsaturado formando novamente o radical lipídico, o qual pode dar seguimento à reação em cadeia (Ferreira e Matsubara, 1997). A Figura 1 ilustra o processo de peroxidação lipídica (Porter et al., 1995).

Quanto mais insaturado for o ácido graxo, maior é a sua propensão em peroxidar. Nas reações subsequentes há a formação de produtos secundários, como aldeídos reativos, dos quais pode-se destacar o malondialdeído (MDA), amplamente utilizado como biomarcador do estresse oxidativo (Miwa et al., 2008).

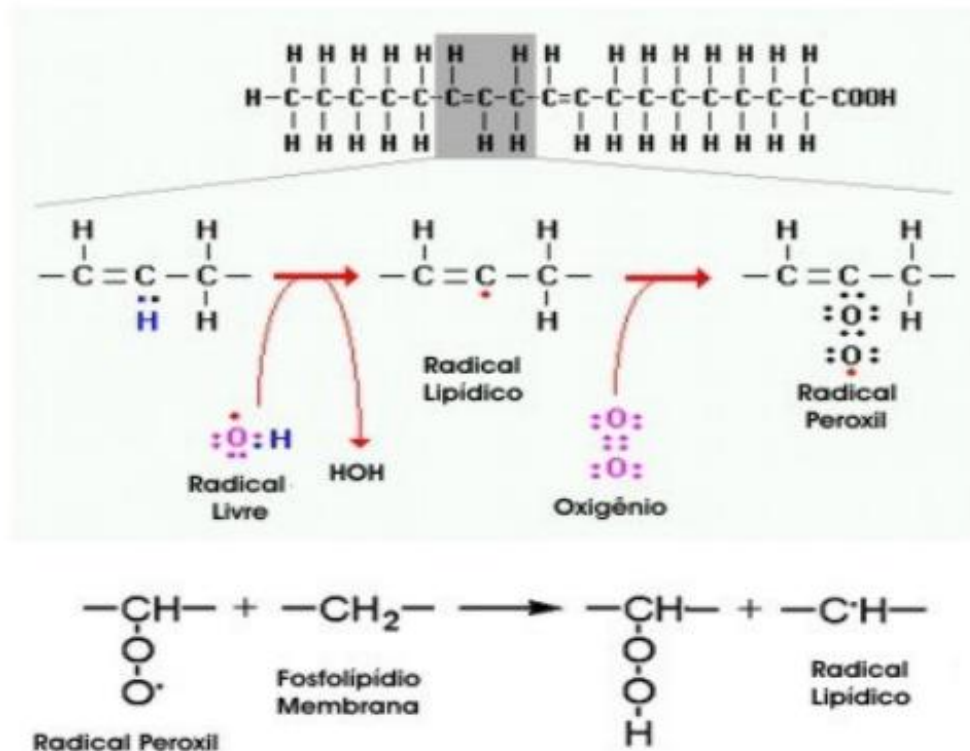


Figura 1 – Processo de peroxidação lipídica (Porter et al., 1995).

A peroxidação lipídica é altamente prejudicial às membranas biológicas, que são ricas em ácidos graxos poliinsaturados. Dentre os efeitos deletérios estão a diminuição da fluidez, aumento da permeabilidade iônica, perda da função de barreira, levando à lise celular e até mesmo à morte celular (Miwa et al., 2008; Doria et al., 2012; Moro et al., 2010). Ocorrendo também a liberação do conteúdo de organelas e a inativação no transporte feito por proteínas de membrana (Barreiros et al., 2006). Além disso, pode

haver a interação com outras biomoléculas como proteínas e DNA, levando a danos irreversíveis. Adicionalmente, a oxidação de lipídios no sangue agride as paredes das artérias e veias, facilitando o acúmulo destes lipídios, com conseqüente aterosclerose, podendo causar trombose, infarto ou acidente vascular cerebral (Barreiros et al., 2006).

Porém, assim como na formação das ERO, nem sempre os processos de lipoperoxidação são prejudiciais, pois fisiologicamente seus produtos são importantes na reação em cascata a partir do ácido araquidônico, na formação de prostaglandinas e, portanto, na resposta inflamatória (Ferreira et al., 1997).

As proteínas, assim como os lipídios, também são alvos das espécies reativas e podem sofrer numerosas modificações oxidativas, variando na sua susceptibilidade aos diferentes tipos de oxidantes e, nos locais e grau de oxidação. Tais diferenças são também influenciadas pelo tipo de resíduo aminoácido vulnerável à oxidação (Miwa et al., 2008). Entre os mais conhecidos tipos de oxidação proteica estão a nitração e a carbonilação de proteínas.

No primeiro caso, o peroxinitrito (ONOO^-), que pode ser formado pela reação do óxido nítrico ($\text{NO}\cdot$) com superóxido ($\text{O}_2^{\cdot-}$), pode converter a tirosina em nitrotirosina. O grupo hidroxila de certos resíduos de tirosina é crítico em algumas enzimas e moléculas de sinalização celular, sendo assim, a atividade enzimática fica prejudicada. Pode-se dizer que o processo de nitração é mais específico, uma vez que existem proteínas alvos preferenciais, tais como a α -sinucleína e a Tau, as quais se acumulam após a nitração e desempenham importantes papéis na doença de Parkinson e doença de Alzheimer, respectivamente (Trujillo et al., 2008). Já no caso de carbonilação, um processo irreversível e não enzimático, grupamentos carbonilas são introduzidos nas proteínas por diversas vias de oxidação. Nesse sentido, a carbonilação de proteínas tem sido usada como indicador global de oxidação proteica (Miwa et al., 2008; Paniz et al., 2007).

O dano oxidativo aumenta a instabilidade termodinâmica e pode induzir mudanças na estrutura terciária das proteínas, resultando na agregação de proteínas. Por exemplo, proteínas altamente carboniladas tendem a formar agregados de alto peso molecular que não são facilmente degradados e se acumulam, dificultando a atividade do sistema de proteases em degradar as demais proteínas danificadas (Miwa et al., 2008).

Aliás, tal dano quando irreversível pode ser responsável pela inativação da função enzimática de muitas proteínas. Os aminoácidos tiólicos cisteína e metionina são particularmente suscetíveis ao ataque oxidativo de quase todas as ERO (Dalle-Donne et al., 2003). A enzima δ -aminolevulinato desidratase (ALA-D), uma metaloenzima que requer grupamentos tiólicos reduzidos para sua atividade, considerada um importante biomarcador do estresse oxidativo (Rocha et al., 2012). A ALA-D faz parte da via biossintética do grupo prostético heme, catalisando a condensação de duas moléculas de ácido δ -aminolevulínico (ALA) com consequente formação do composto monopirrólico porfobilinogênio, sendo, portanto, essencial para a produção de hemoglobina. É, contudo, altamente sensível a elementos pró-oxidantes, os quais agem nos grupamentos sulfidrílica (-SH) da mesma, resultando em redução da sua atividade e conseqüentemente, prejudicando a síntese do heme, o que pode levar a anemia (Goering, 1993). Também, o acúmulo do substrato da enzima, o ALA, no sangue exacerba a produção de ERO, contribuindo para o estresse oxidativo (Paniz et al., 2007; Souza, 2007; Valentini et al., 2008).

O acúmulo de agregados de proteínas carboniladas nos tecidos tem sido diretamente associado a muitas doenças neurodegenerativas. Em adição, doenças como diabetes, catarata e câncer, onde já foi demonstrado inibição da enzima ALA-D, também relatam o envolvimento de danos oxidativos (Goncalves et al., 2005; Fernandez-Cuartero et al., 1999; Fontanellas et al., 2002).

Nesse sentido, lipídios e proteínas que já tenham sido afetados pelo estresse oxidativo tornam-se reativos e podem favorecer a formação de ligações cruzadas com o DNA (Singh, 2006), resultando em conseqüências deletérias. Além disso, muitos tipos de lesões causadas por espécies reativas no DNA têm sido relatadas, incluindo modificações de base, quebras de fita simples e dupla, entre outras (Moro et al., 2012). Tais lesões podem resultar tanto em mutagênese como em instabilidade genômica, contribuindo assim com a morte celular e patologicamente, com o desenvolvimento de câncer. O próprio processo de envelhecimento tem sido associado à perda progressiva da fidelidade genômica, apesar do complexo sistema de reparo existente, pois ocorrem falhas na reparação que levam ao acúmulo de DNA alterado.

Muitas pesquisas têm demonstrado uma relação positiva entre o aumento do estresse oxidativo *in vivo* e o envelhecimento biológico (Poljsak e Milisav, 2012;

Ferreira et al., 1997). De acordo com Doria e colaboradores (2012), durante o envelhecimento do organismo, a produção de espécies reativas de oxigênio é aumentada como resultado da deterioração funcional das mitocôndrias (Doria et al., 2012), que é o principal local de consumo de oxigênio intracelular (Poljsak et al., 2012). Assim, é gerado um "ciclo vicioso", onde as espécies reativas danificam o DNA mitocondrial levando a mitocôndria a produzir mais superóxido, uma espécie reativa de oxigênio (Poljsak et al., 2012).

Também, existem evidências indicando que o estresse oxidativo é um importante fator em alterações patológicas associadas com a idade, especialmente aquelas crônicas (Finkel et al., 2000; Gutteridge e Halliwell, 2000; Berr et al., 1998), tais como, doenças inflamatórias do intestino, doenças cardiovasculares e doenças neurodegenerativas incluindo acidente vascular cerebral, doença de Parkinson e doença de Alzheimer (Luo e Packer, 2006). Vale ressaltar a maior vulnerabilidade do sistema nervoso ao estresse oxidativo, especialmente por seu alto teor lipídico, incluindo ácidos graxos polinsaturados, e pelas altas taxas de oxigênio requeridas (Matte et al., 2009). O cérebro, particularmente, é relativamente deficiente em sistemas antioxidantes endógenos comparado aos outros órgãos (Kedar, 2003). Isso faz com que o estresse oxidativo tenha um importante papel no declínio das funções neurológicas observadas com o envelhecimento (Mariani et al., 2005; Meydani, 2001).

1.3.2 Defesa antioxidante endógena

Para se proteger do dano oxidativo causado por espécies reativas, o organismo humano possui um elaborado sistema de defesa antioxidante endógeno, constituído por enzimas como a catalase, a superóxido dismutase (SOD) e a glutaciona peroxidase (GPx) e por antioxidantes não-enzimáticos como os tióis não protéicos, dentre os quais a glutaciona reduzida (GSH), e a ubiquinona (Nozal et al., 1997; Belló, 2002; Urso e Clarkson, 2003). Antioxidantes são substâncias capazes de reagir com oxidantes, levando a diminuição ou inibição da oxidação por meio de diversos mecanismos, desde a remoção do oxigênio do meio, remoção das ERO, sequestro dos metais catalisadores da formação de radicais livres, aumento da geração de antioxidantes endógenos ou mesmo a interação desses diferentes mecanismos (Belló, 2002).

O sistema enzimático endógeno constitui a primeira linha de defesa antioxidante do organismo contra as ERO, evitando o acúmulo do ânion superóxido e do peróxido de hidrogênio. Para isso, a SOD tem papel fundamental, pois detoxifica ânions radicais superóxido produzindo peróxido de hidrogênio, em um processo de dismutação que ocorre normalmente em pH fisiológico, porém de forma muito acelerada na presença dessa enzima. A superóxido dismutase pode ocorrer de três formas, dependendo do metal associado à mesma: cobre (Cu) e zinco (Zn) no citoplasma dos eucariontes e no meio extracelular, manganês (Mn) na matriz mitocondrial e ferro (Fe) em bactérias (Gilham et al., 1997; Sies, 1997).

O peróxido de hidrogênio formado pode ser reduzido por ação de outro antioxidante enzimático, a catalase, ocorrendo assim a formação de água e oxigênio (Ames et al., 1993; Nordberg e Arner, 2001). A catalase é encontrada no sangue, medula óssea, mucosas, rins e fígado e sua localização está nos peroxissomas, tendo por isto ação diminuída em órgãos privados dessas organelas como o coração, pulmão e o cérebro. Nestes órgãos a ação antioxidante por esta enzima ocorre quando as espécies reativas atingem a corrente sanguínea, através da catalase eritrocitária (Gilham et al., 1997; Sies, 1997).

Outro mecanismo de detoxificação do peróxido de hidrogênio (H_2O_2) é através da enzima glutathiona peroxidase (GPx), a qual catalisa a redução do H_2O_2 e de outros hidroperóxidos (ROOH) através da utilização da glutathiona reduzida (GSH) formando glutathiona oxidada (GSSG). Esta enzima é dependente de selênio (Se) e se encontra localizada no citoplasma e na matriz mitocondrial, tendo elevada atividade principalmente no fígado e em eritrócitos, podendo ocorrer moderadamente também no coração, pulmões e músculos (Gilham et al., 1997; Sies, 1997). A GPx é a única enzima antioxidante conhecida capaz de reduzir o H_2O_2 produzido pela Mn-SOD mitocondrial, uma vez que a maioria das mitocôndrias existentes em células de mamíferos não possuem atividade da catalase. Desta forma, o sistema antioxidante enzimático consegue proteger os sistemas biológicos contra os efeitos deletérios das reações que levam à oxidação de estruturas celulares.

Dentro do sistema não-enzimático endógeno, a GSH atua detoxificando metabólitos eletrofílicos, não somente como doador imediato de elétrons para neutralizar o H_2O_2 e lipoperóxidos, mas também como um sequestrador de espécies

reativas de oxigênio e nitrogênio (Leichtweis e Ji, 2001; Ashfaq et al., 2006; Nozal et al., 1997). Sua capacidade redutora é determinada pelo grupamento –SH, presente em sua molécula. O tripeptídeo glutathiona, L- γ -glutamil-L-cisteinil-glicina, é o principal tiol livre não protéico encontrado em vários tecidos biológicos, sendo considerada também o principal antioxidante não enzimático endógeno (Nozal et al., 1997). No sangue, 99,5% da glutathiona se encontra no interior dos eritrócitos e uma pequena quantidade está associada às membranas destes (Mills e Lang, 1996). Embora presente em várias formas: reduzida (GSH), oxidada (GSSG) e ligada às proteínas (PSSG), a GSH é a forma mais abundante (Nozal et al., 1997).

O núcleo do resíduo cisteinilglicina da glutathiona está envolvido na sua função como antioxidante, mais especificamente como um redutor intracelular, sendo capaz, por exemplo, de reagir com um elétron não pareado de um radical livre, formando um radical GS \cdot , que produz, por dimerização, o GSSG. A redução de H₂O₂ e peróxidos orgânicos a seus álcoois correspondentes com a conversão de GSH em GSSG é catalisada pela enzima GPx dependendo essencialmente da presença de selênio. A GSSG é, então, reduzida pela glutathiona redutase (GR), regenerando a GSH, num processo à custa de NADPH (Shan et al., 1990; Jordão Jr, 1998).

A Figura 2 resume o sistema antioxidante enzimático endógeno atuando na detoxificação de ERO, bem como a rota de interconversão da glutathiona (Salvador e Henriques, 2004).

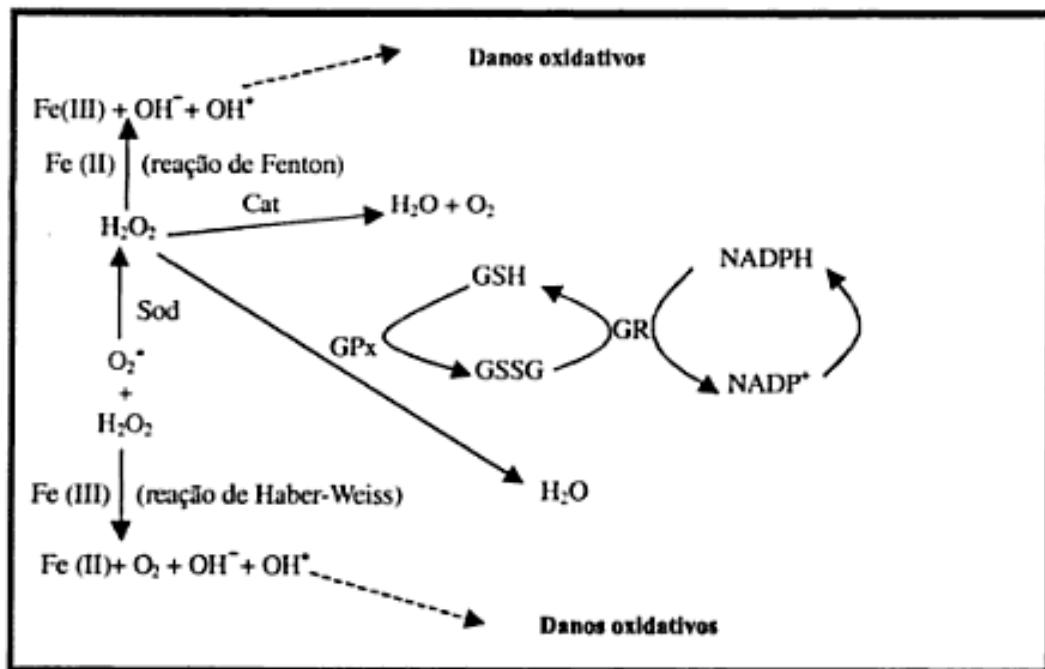


Figura 2 - Sistema antioxidante enzimático endógeno (Salvador e Henriques, 2004).

Durante o envelhecimento, e em casos de doenças associadas ao estresse oxidativo, os antioxidantes são consumidos, podendo haver redução de seus níveis, o que implica em uma preocupante diminuição da defesa do organismo na preservação da sua integridade, visto que, antioxidantes podem prevenir a perda de memória e o déficit cognitivo associado à idade (Meydani, 2001).

1.3.3 Defesa antioxidante exógena

Além do sistema endógeno, numerosos antioxidantes exógenos contribuem para a defesa antioxidante, entre eles estão os hidrofílicos, tais como a vitamina C, indóis e catecóis, e os lipofílicos, exemplificados pela vitamina E, vitamina A e carotenóides (Urso et al., 2003). Nesta linha, a quantificação de micronutrientes também é importante para avaliar a saúde dos idosos.

O interesse pela ação antioxidante de componentes da dieta é notoriamente crescente nos últimos anos, com especial ênfase às vitaminas C, E, A e ao licopeno, micronutrientes essenciais para a defesa do organismo contra as alterações que podem ocorrer no envelhecimento (Ramalho et al., 2003).

A vitamina C é um nutriente hidrossolúvel encontrado primariamente em frutas e vegetais, que age diretamente sobre as espécies reativas na fase aquosa do plasma, antes que estes venham a oxidar lipídios e lipoproteínas (Benzie e Strain, 1999). Alguns autores enfatizam a importância da vitamina C como antioxidante em situações de aumento de estresse oxidativo vinculado a danos neurológicos (Polidori, 2003). Estudos mostram que em condições de estresse oxidativo, até que toda a vitamina C seja consumida, não ocorrem significantes perdas de outros antioxidantes, nem aumento da lipoperoxidação em plasma humano (Frei et al., 1988), porém sua atividade não se restringe apenas ao seu efeito antioxidante, estando envolvida em outras reações como, por exemplo, na síntese de colágeno (Yu, 1998).

A vitamina E, cuja forma predominante e mais ativa no plasma é o α -tocoferol (Mayne, 2003; Burtis et al., 2008), tem sido descrita como o principal antioxidante lipofílico do organismo e do cérebro (Cherubini et al., 2001). Baixas concentrações de vitamina E são freqüentemente observadas no líquido cefalorraquiano de pacientes com doença de Alzheimer, sugerindo que níveis normais de vitamina E poderiam retardar o desenvolvimento desta doença (Kontush e Schekatolina, 2004).

A prevenção da oxidação pela vitamina E pode se dar por diferentes mecanismos, uma vez que esta vitamina pode destruir agentes oxidantes, ao agir como doador de hidrogênio para o radical peroxila, diminuir a conversão de agentes oxidantes menos reativos a mais reativos, facilitar o reparo de danos causados pelos agentes oxidantes e promover um ambiente favorável para a ação de outros antioxidantes (Miller et al., 1993; Zhang e Omaye, 2001).

Como possui alta lipossolubilidade, distribui-se pelas membranas lipídicas, constituindo-se na principal defesa das mesmas contra as lesões oxidativas (Chan, 1993). Estudos apontam a vitamina E como o mais importante antioxidante para a lipoproteína de baixa densidade (LDL) (Bonithon-Kopp et al., 1997; Stampfer e Rimm, 1995) e quando há depleção de antioxidantes na molécula de colesterol LDL, ocorre peroxidação lipídica em cadeia, de modo que a presença de antioxidantes nessa lipoproteína retarda o início deste processo (Mosca et al., 1997).

Ao proteger os lipídios da oxidação, a vitamina E (α -tocoferol) torna-se um radical α -tocoferil, que necessita ser regenerado para recuperar seu potencial antioxidante, em um fenômeno de reciclagem da vitamina E (Zemleni et al., 2007;

Catania et al., 2009). Assim, é fundamental a sua interação com outros antioxidantes para que ela permaneça na sua forma não-oxidada (Figura 3). Dentre os antioxidantes mais importantes biologicamente na regeneração à α -tocoferol estão a vitamina C, a coenzima-Q10, uma ubiquinona lipossolúvel, e os tióis, especialmente a glutationa (Zempleni et al., 2007).

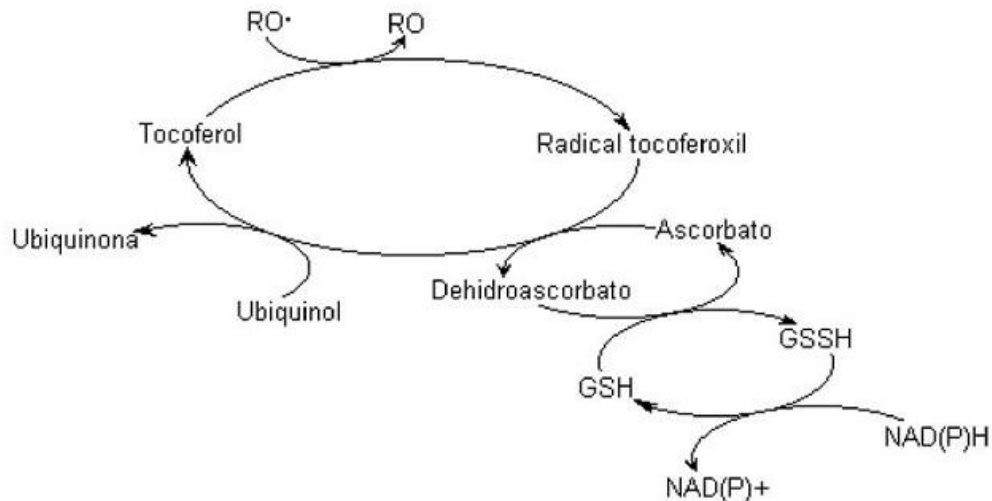


Figura 3 – Sistema de regeneração do α -tocoferol (Hirata et al., 2004).

A deficiência da vitamina E tem sido associada a um aumento da viscosidade das plaquetas do sangue, predispondo à formação de coágulos potencialmente fatais (Bonithon-Kopp et al., 1997; Stampfer et al., 1995). Assim, a vitamina E previne doenças ateroscleróticas não somente por seu efeito antioxidante, mas também por seu efeito inibidor sobre a proliferação de células do músculo liso e sobre a adesão e agregação plaquetária (Harris et al., 2002). Ainda, ela tem efeito modulador sobre as respostas inflamatória e imune, em geral, sua deficiência aumenta os componentes da resposta inflamatória e prejudica a imunidade celular e humoral (Chan, 1993). Nesse sentido, experimentos com animais mostraram que a suplementação com vitamina E aumenta a resistência contra infecções (Meydani, 2001).

O retinol, ou vitamina A, por sua vez, é uma vitamina lipossolúvel com uma cadeia alifática insaturada, cuja absorção e metabolismo podem ser influenciados por lipídios (Cherubini et al., 2005). Seu potencial antioxidante provém de sua ação como agente de quebra de cadeia oxidativa, o qual interage com o radical peroxil, antes que esse

radical possa propagar a peroxidação na fase lipídica da célula e gerar hidroperóxidos (Palace et al., 1999). Tesoriere e colaboradores (1993) sugerem melhor eficiência do retinol, comparado ao tocoferol, devido a sua curta cadeia de polienos (Tesoriere et al., 1993), que permite uma alta mobilidade e melhor oportunidade para interagir com o radical peroxil na membrana (Das, 1989).

Esta vitamina também tem um papel na diferenciação celular e no metabolismo proteico das células (Berdanier et al., 2008). Assim, a sua deficiência pode resultar em múltiplas anormalidades na imunidade inata e adaptativa envolvendo a diferenciação celular, hematopoiese e a habilidade do organismo em enfrentar patógenos (Zempleni et al., 2007). Por outro lado, a ingestão de retinol superior aos níveis recomendados, mas não declaradamente tóxicos, pode ainda ter consequências adversas (Bhagavan, 2002b; Zempleni et al., 2007). É sabido que tanto a suplementação como a deficiência de vitamina A pode promover efeitos anti ou pró-oxidantes dependendo da dose, do tecido alvo, e do modelo experimental (Behr et al., 2012). Experimentalmente, há evidências de que retinóides (vitamina A e seus derivados) podem influenciar a biologia do câncer, especialmente porque eles estão envolvidos no crescimento e na diferenciação celular (Berdanier et al., 2008), mas também devido a sua ação surfactante, que leva a labilização e ruptura das membranas (Bhagavan, 2002b).

Dentre os inúmeros micronutrientes envolvidos na defesa exógena destacam-se ainda os carotenóides, cuja estrutura molecular é parcialmente responsável pela sua atividade antioxidante por causa da sua capacidade de reagir com oxigênio singleto, uma forma altamente reativa do oxigênio molecular, interrompendo a propagação das reações oxidativas (Catania et al., 2009). Dessa forma, os carotenóides protegem as células de danos oxidativos provocados por espécies reativas que podem ser gerados no citoplasma, nas mitocôndrias ou na membrana, atacando lipídios, proteínas, carboidratos e DNA (Shami e Moreira, 2004), desempenhando assim, um importante papel na prevenção de doenças associadas ao processo de estresse oxidativo (Ribeiro e Seravalli, 2004).

Apesar de existirem mais de 600 diferentes carotenóides, apenas 10% são precursores da vitamina A, sendo o β -caroteno a forma mais ativa e disponível na dieta (Bendich, 1989; Olson, 1989), pois pode ser dividido formando duas moléculas de retinol (Paiva e Russell, 1999). Em países em desenvolvimento o β -caroteno é a

principal fonte desta vitamina, contudo, nem todo β -caroteno proveniente da dieta é convertido em vitamina A. Parte dele pode agir como antioxidante responsável por vários efeitos biológicos já reportados, entre eles o aprimoramento do sistema imunológico, a estimulação da comunicação intercelular *in vitro* (Zempleni et al., 2007) e a proteção contra algumas formas de câncer (Whitney e Rolfes, 2008).

Outro carotenóide de grande importância é o licopeno, um poderoso antioxidante exógeno (Berdanier et al., 2008). Embora não seja por si só uma vitamina, existem evidências epidemiológicas que asseguram seus benefícios para a saúde atualmente conhecidos como a prevenção de certos tipos de câncer, como o de pulmão e de próstata (Bales et al., 2009). Recentemente, o licopeno tem sido associado também a benefícios cardíacos (Singh, 2006) e cabe ressaltar que todas estas ações foram atribuídas às suas propriedades antioxidantes. A prevenção da peroxidação lipídica pelo licopeno pode ser uma das razões para a redução do risco de aterosclerose e doenças cardiovasculares (Singh, 2006), embora sejam possíveis outros mecanismos de ação, incluindo a modulação da comunicação intercelular, alterações no sistema hormonal e imunológico e alterações de vias metabólicas (Berdanier et al., 2008).

Atualmente tem se tornado evidente que as concentrações de vitaminas em seres humanos são estritamente reguladas (Litwack, 2007) e que existe uma ação sinérgica entre os diferentes nutrientes, por exemplo, a vitamina C pode aumentar a conversão de β -caroteno em retinol, por outro lado, o α -tocoferol pode regular negativamente a conversão dos carotenos em retinol e, assim, reduzir a toxicidade do último (Berdanier et al., 2008; Poljsak et al., 2012). Além disto, o α -tocoferol, sozinho ou em combinação com a vitamina C, foi estudado na prevenção de diversas doenças crônicas não transmissíveis como a diabetes, doença cardíaca coronária e doença de Alzheimer (Bales et al., 2009). Diante do exposto, se observa um delicado equilíbrio entre os antioxidantes na manutenção da defesa contra o estresse oxidativo, a fim de evitar que ocorram deficiências ou excessos, os quais poderiam ser prejudiciais.

Em contrapartida, apesar da tendência em publicar apenas os resultados que mostram os efeitos positivos (Miwa et al., 2008), estudos na área, incluindo grandes ensaios clínicos randomizados de suplementação de vitamina E a longo prazo não conseguiram mostrar um benefício significativo e sugeriram ainda que, altas doses desta vitamina podem ser associadas ao aumento da mortalidade (Miller et al., 2005,

Bales et al., 2009; Guachalla e Rudolph, 2010). De forma geral, apesar de todos os benefícios atribuídos aos antioxidantes demonstrados em diversos estudos *in vitro* e com animais, estudos clínicos ainda apresentam resultados controversos, ora mostrando benefícios, ora atribuindo efeitos negativos ou mesmo nenhum efeito (Bader et al., 2007; Hasnain e Mooradian, 2004; Dolara et al., 2012). Assim, subsistem dúvidas sobre a ação dessas substâncias (Catania et al., 2009).

No entanto, não há dúvidas de que a nutrição é peça chave para uma adequada defesa antioxidante exógena, uma vez que esta provém da dieta. Dessa forma, o potencial efeito da nutrição se torna um tema de crescente interesse científico e público. Existem relatos de que a deficiência de nutrientes das dietas, como vitaminas e oligoelementos, como por exemplo, zinco e selênio, podem aumentar o risco de declínio cognitivo e demência, especialmente em idosos (Quadri et al., 2004).

Nesse sentido, diversos estudos têm apoiado a hipótese de que doenças crônicas, incluindo cardiovasculares, neoplásicas e neurodegenerativas podem ser benéficamente influenciadas pelo aumento da ingestão dietética de ácidos graxos poliinsaturados da série ômega 3 (n-3) (Simon et al., 1995; Simopoulos, 1999). O termo ácido graxo poliinsaturado, em inglês *polyunsaturated fatty acids* (PUFAs), se refere aos ácidos graxos cujas moléculas possuem duas ou mais ligações duplas, sendo denominados w ou n, a fim de diferenciá-los em relação à posição da primeira ligação dupla, contada a partir da extremidade terminal com grupamento metila (Martins e Gruezo, 2008).

Há um amplo consenso de que entre os PUFAs n-3, os mais poderosos são os de cadeia longa: o ácido docosahexaenóico (DHA, 22:6n-3) e o ácido eicosapentaenóico (EPA, 20:5n-3) (Martins e Gruezo, 2008). Estes ácidos podem ser produzidos de forma endógena a partir do ácido α -linolênico (LNA, 18:3n-3), um PUFA essencial amplamente disponível em vegetais, através de reações de dessaturação e alongamento da cadeia (Calviello et al., 2013). No entanto, a eficácia destas conversões é muito baixa na presença de elevados níveis de ácido linoleico (LA, 18:2n-6), principal precursor do ácido araquidônico (AA, 20:4n-6), frequentemente observados nas dietas ocidentais (Simopoulos, 1999). Além disso, ambos EPA e DHA podem ser obtidos diretamente da dieta, através de alimentos como peixes e frutos do mar (Calviello et al., 2013). Independente da origem dietética, tanto PUFAs n-3 quanto

PUFAs n-6 podem ser convertidos em potentes mediadores lipídicos que desempenham um papel importante na regulação da inflamação (Martins et al., 2008).

Geralmente, os mediadores lipídicos derivados da família n-6 promovem a inflamação enquanto que o efeito anti-inflamatório tem sido atribuído à família n-3 em diversos estudos experimentais (Calviello et al., 2013). Essas duas famílias de ácidos graxos competem pelas mesmas enzimas, portanto o equilíbrio entre n-6 e n-3 é de grande importância (Martins et al., 2008). Adicionalmente, por serem essenciais, os PUFAs são indispensáveis na alimentação, mas uma alta relação entre n-6/n-3 tem sido associada aos estágios iniciais do processo de carcinogênese (Martins e Gruezo, 2008). Isso porque os ácidos graxos n-6, levam à produção de eicosanoides, derivados das vias da lipoxigenase e ciclooxigenase; e à formação de radicais livres e outros compostos reativos liberados de uma intensa peroxidação lipídica que podem causar danos ao DNA (Martins e Gruezo, 2008).

Por outro lado, evidências indicam um efeito específico de PUFAs n-3 na proteção dos neurônios (Calviello et al., 2013). Mais especificamente, o cérebro apresenta significativa concentração de DHA, o qual é essencial para o funcionamento neurológico normal. Nesse sentido, já foi relatado que este ácido graxo impede a apoptose induzida pelo estresse oxidativo de células neuronais e de células fotorreceptoras da retina, demonstrando também seu potencial antioxidante (Calviello et al., 2013). Além disso, estudos mostraram que o consumo de peixes marinhos, que contém EPA e DHA em sua composição, leva a uma redução dos níveis de colesterol e triglicerídeos, fatores de risco de doenças vasculares (Martins et al., 2008).

Considerando que variações na dieta interferem na defesa antioxidante, pode-se inferir que o padrão de condições sociais que determinam os hábitos alimentares, incluindo diferença nas culturas regionais, nível sócio-econômico (Gillette et al., 2007) podem contribuir para a qualidade nutricional dos idosos. Ainda entre os idosos, estudos comparativos revelaram maior deficiência nutricional nos idosos institucionalizados do que nos idosos não-institucionalizados (Finkel et al., 2000; Gutteridge et al., 2000; La et al., 1997; Freire-Júnior et al., 2004; Essama-Tjani et al., 2000). As próprias mudanças anatômicas e funcionais que ocorrem durante o envelhecimento levam a uma maior susceptibilidade a estados de carência nutricional, por exemplo, uma diminuição na absorção gastrointestinal dos micronutrientes é

frequente em idosos (Finkel et al., 2000; Gutteridge et al., 2000; Berr et al., 1998). Também, alterações no apetite e no paladar, além de dificuldades em engolir ou mastigar podem limitar a ingestão de nutrientes em alimentos (Wood et al., 1995). A consequência é que este grupo populacional é mais sensível a alterações micronutricionais, visto que há um maior estresse oxidativo envolvido neste processo.

1.4 Inflamação em Idosos

O envelhecimento normal é acompanhado por diversas alterações no sistema imune (Úbeda et al., 2012). A imunossenescência, que torna os idosos particularmente suscetíveis a infecções, é caracterizada por declínio no funcionamento e proliferação de linfócitos, redução na formação de anticorpos e diminuição de hormônios necessários para o funcionamento do timo (Ungvari et al., 2004). Fatores ambientais também contribuem para o declínio da função imunológica observado com a idade, dentre eles destaca-se o uso de determinados medicamentos e deficiências de nutrientes necessários para a função imune (Úbeda et al., 2012).

Nesta linha, a produção aumentada de citocinas pró-inflamatórias tem sido associada com o envelhecimento vascular prematuro e é característica de doenças crônicas como aterosclerose e Doença de Alzheimer (Ungvari et al., 2004). Citocinas são proteínas do sistema imune produzidas principalmente pelos leucócitos, mas também pelo endotélio vascular, que servem como comunicadores químicos entre as células, além de outras funções críticas para a defesa do hospedeiro contra patógenos (Abbas et al., 2007; Bhagavan, 2002; Cruse and Lewis, 2004). Dentre as citocinas pró-inflamatórias, pode-se destacar o fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) e a interleucina 6 (IL-6), que atuam regulando positivamente a expressão de moléculas de adesão, promovem a formação de trombos e induzem a produção de várias quimiocinas nas células endoteliais (Ungvari et al., 2004). TNF- α e interleucina 1 (IL-1) também têm sido associados com o aumento da expressão da enzima óxido nítrico sintetase, resultando na produção de grandes quantidades de óxido nítrico, um importante vasodilatador, em processos inflamatórios (Caramoni e Zago, 1999). A interleucina 10 (IL-10), por sua vez, também tem sido bastante estudada devido sua ação anti-inflamatória (Ungvari et al., 2004).

Os mecanismos pelos quais a idade avançada, por si só promove a inflamação vascular ainda não são bem compreendidos. No entanto, especula-se que na aterosclerose, uma doença inflamatória crônica, a ativação endotelial desempenha um importante papel patogênico (Caramoni e Zago, 1999). Estudos prévios têm relatado o desenvolvimento de um microambiente pró-inflamatório na parede vascular durante o envelhecimento, capaz de alterar a maneira como os sistemas imunológico, circulatório e endócrino interagem (Ungvari et al., 2004). Assim, o recrutamento de leucócitos, as mudanças de expressão de citocinas e um ciclo vicioso de mecanismos inflamatórios caracterizam fases subsequentes da aterogênese. Especialmente na presença de outros fatores de risco, como hipertensão, diabetes, hipercolesterolemia e hiperhomocisteinemia (HHcy), há um aumento tanto da vulnerabilidade dos vasos à formação de placas ateroscleróticas bem como do surgimento de complicações, como a trombose, que são responsáveis por infarto agudo do miocárdio e pela maioria dos acidentes vasculares cerebrais e aneurismas (Ungvari et al., 2004).

Nesse sentido, a elevação plasmática da homocisteína (Hcy) está associada com a doença vascular prematura em adultos (Venâncio et al., 2004). Estudos *in vitro* e em animais sugerem que esta condição não apenas lesa o endotélio vascular (Welch e Loscalzo, 1998), mas também promove a síntese de várias citocinas pró-inflamatórias na parede arterial (Hofmann et al., 2001; La et al., 1997; Poddar et al., 2001), sendo desta forma, considerada por muitos como um fator independente de risco cardiovascular (Brosnan et al., 2004; Carmel et al., 2003; Chandalia et al., 2003; Herrmann et al., 2001; Herrmann e Geisel, 2002) e de danos neuronais (Gallucci et al., 2004; Carmel et al., 2003; Bostom et al., 1999). A Hcy é um aminoácido formado exclusivamente a partir da desmetilação da metionina proveniente da dieta ou de seu catabolismo (Neves, 2001) e está associada também ao aumento da geração de espécies reativas de oxigênio, da peroxidação lipídica e do dano tecidual (Splaver et al., 2004). Esta relação com o estresse oxidativo é um dos possíveis mecanismos estudados para explicar a disfunção cognitiva induzida por elevados níveis de Hcy (Aisen et al., 2008).

Considerando-se que as doenças crônicas não transmissíveis, tais como episódios de infarto do miocárdio e doenças neurodegenerativas, especialmente em idosos, representam um grande problema de saúde pública, é necessário compreender

melhor alguns aspectos do processo de envelhecimento. Um grande número de evidências existe sobre o papel do estresse oxidativo bem como da inflamação neste processo e em patologias crônicas (Grune e Davies, 2001). No entanto, poucos estudos levam em conta as condições habitacionais dos idosos (Paniz et al., 2007). Além disso, a relação entre envelhecimento e nutrição é muito importante, pois sabe-se que idosos são mais vulneráveis ao declínio nutricional. Assim, uma ampla avaliação da saúde dos idosos é de extrema importância. Especialmente, o melhor entendimento dos mecanismos envolvidos no desenvolvimento de declínio cognitivo, pode contribuir para sua prevenção e conseqüentemente para uma maior autonomia e qualidade de vida, minimizando os gastos com saúde do idoso, resultantes destas condições.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Estudar as associações entre processo inflamatório, estresse oxidativo, perfil de ácidos graxos e metais com o declínio cognitivo de idosos institucionalizados, em lares filantrópicos, e idosos não-institucionalizados, usuários do Sistema Único de Saúde (SUS), assim como de jovens saudáveis.

2.2 Objetivos específicos

- Avaliar possíveis contribuições do processo inflamatório e do estresse oxidativo sobre a função cognitiva;
- Avaliar se antioxidantes exógenos têm efeito de proteção contra os danos associados ao estresse oxidativo;
- Avaliar se a inibição da enzima ALA-D está associada ao declínio cognitivo;
- Avaliar o papel de diferentes metais no processo de declínio cognitivo e também na atividade da ALA-D;
- Avaliar a relação entre ácidos graxos da dieta e a função cognitiva;
- Avaliar se os níveis de ácidos graxos estão associados à homocisteína, um fator de risco às doenças crônicas.

3. CAPÍTULO I

Relationship between inflammation and oxidative stress and cognitive decline in institutionalized elderly

Marília Baierle^{a,b}; Sabrina N. Nascimento^{a,b}; Angela M. Moro^{a,b}; Natália Brucker^{a,b};
Fernando Freitas^{a,b}; Bruna Gauer^a; Juliano Durgante^a; Suelen Bordignon^c; Murilo
Zibetti^c; Clarissa M. Trentini^c; Marta M. M. F. Duarte^d; Tilman Grune^e; Nicolle Breusing^f;
Solange C. Garcia^{a,b,*}

Manuscrito submetido à publicação no periódico *Neurotoxicology*

As seguintes páginas (56-88) foram excluídas, pois correspondem ao manuscrito submetido para publicação no periódico *Neurotoxicology*.

Sabe-se que o declínio cognitivo reduz a qualidade de vida e está relacionado com distúrbios vasculares e neurodegenerativos. Além disso, também há uma estreita relação entre tais doenças e o estresse oxidativo. Assim, o objetivo deste estudo foi avaliar se a inflamação e o dano oxidativo estão associados com o baixo desempenho cognitivo de idosos com diferentes condições habitacionais. Para isso, foram avaliados 32 idosos institucionalizados e 25 idosos não-institucionalizados. Marcadores de dano oxidativo, marcadores de inflamação e a função cognitiva foram avaliados.

Os resultados desse estudo mostraram através da análise de regressão linear múltipla que o estresse oxidativo pode ser sugerido como o principal fator responsável pelo declínio cognitivo. De fato, embora a inflamação seja associada ao baixo desempenho cognitivo, os resultados sugerem que os indivíduos com capacidade antioxidante reduzida são mais vulneráveis ao estresse oxidativo, o que afeta a função cognitiva, levando a prejuízos na qualidade de vida.

4. CAPÍTULO II

Are delta-aminolevulinate dehydratase inhibition and metal concentrations additional factors for the age-related cognitive decline?

Marília Baierle^{1,2}, Mariele F. Charão^{1,2}, Gabriela Göethel^{1,2}, Anelise Barth^{1,2}, Rafael Fracasso^{1,2}, Guilherme Bubols^{1,2}, Elisa Sauer¹, Sarah C. Campanharo¹, Rafael C. C. Rocha³, Tatiana D. Saint’Pierre³, Suelen Bordignon⁴, Murilo Zibett⁴, Clarissa M. Trentini⁴, Daiana S. Ávila⁵, Adriana Gioda³ and Solange C. Garcia^{1,*}

Manuscrito submetido à publicação no periódico *International Journal of Environmental Research and Public Health*

As seguintes páginas (92-109) foram excluídas, pois correspondem ao manuscrito submetido para publicação no periódico *International Journal of Environmental Research and Public Health*.

Estudos têm relatado uma diminuição da atividade da enzima δ -aminolevulinato desidratase (ALA-D) em doenças crônicas associadas com o estresse oxidativo. Além disso, a exposição crônica a metais, tais como o chumbo, também tem sido associada com a inibição da ALA-D. Considerando a importância da compreensão dos mecanismos fisiopatológicos envolvidos no declínio cognitivo, este estudo teve como objetivo avaliar se a inibição da ALA-D também estaria envolvida no déficit cognitivo relacionado à idade, bem como verificar a influência de alguns metais como fatores adicionais na atividade enzimática e no desempenho cognitivo de idosos. Para isso foram avaliados 50 idosos e 20 jovens saudáveis.

Os resultados desse estudo permitiram concluir que a inibição da ALA-D pode ser um fator contribuinte para o declínio cognitivo em idosos, provavelmente devido ao acúmulo do seu substrato, ALA, o qual conduz um ciclo vicioso pró-oxidante no cérebro e conseqüentemente neurotoxicidade. Além disso, o acúmulo de metais tóxicos também parece estar relacionado com a fisiopatologia da perda da cognição em pessoas idosas, uma vez que estes metais podem prejudicar a reativação da ALA-D além de alguns possuírem propriedades neurotóxicas.

5. CAPÍTULO III

Fatty acid status and its relationship to cognitive decline and homocysteine levels in the elderly

Marília Baierle ^{1,2}, Patrícia H. Vencato ¹, Luiza Oldenburg ¹, Suelen Bordignon ³, Murilo Zibetti ³, Clarissa M. Trentini ³, Marta M. M. F. Duarte ⁴, Juliana C. Veit ⁵, Sabrina Somacal ⁵, Tatiana Emanuelli ⁵, Tilman Grune ⁶, Nicolle Breusing ⁷ and Solange C. Garcia ^{1,2,*}

Manuscrito submetido à publicação no periódico *Nutrients*

As seguintes páginas (114-131) foram excluídas, pois correspondem ao manuscrito submetido para publicação no periódico *Nutrients*.

A nutrição é comumente aceita como um fator ambiental envolvido no processo de envelhecimento, que contribui para a prevenção de doenças crônicas. Neste sentido, estudos epidemiológicos demonstraram que os ácidos graxos poli-insaturados (PUFAs) podem afetar várias condições patológicas. Da mesma forma, o efeito potencial de ácidos graxos da série ômega 3 (n-3 PUFAs) sobre a memória tem sido relatado. De fato, as membranas cerebrais são ricas em n-3 PUFAs, que possuem propriedades anti-inflamatórias, antioxidante, anti-aterogênica e neuroprotetoras. Ácidos graxos ômega 3 também têm sido associados com benefícios cardiovasculares. Portanto, o objetivo deste estudo foi avaliar o perfil de ácidos graxos em idosos com e sem declínio cognitivo em uma tentativa de estabelecer possíveis relações entre esses nutrientes e a função cognitiva. Além disso, este estudo investigou se os ácidos graxos estão relacionados ao risco cardiovascular por meio da avaliação de homocisteína nessas populações. Para isso foram avaliados 45 idosos, os quais foram divididos em grupo caso e grupo controle através da pontuação obtida no Mini-Exame do Estado Mental (MEEM), utilizando pontos de corte adequados à escolaridade.

Apesar do limitado tamanho amostral do grupo caso, esse estudo permitiu concluir que a diminuição dos níveis de n-3 PUFAs, especialmente DHA, e o aumento dos ácidos mirístico e palmítico, ambos saturados, parecem estar associados com o declínio cognitivo. Menores níveis de n-3 PUFA também podem estar relacionados com o aumento dos níveis de homocisteína, que por favorecer o desenvolvimento de doenças vasculares pode estar envolvida no risco de declínio cognitivo e de outras disfunções cerebrais. Portanto, a ingestão equilibrada de ácidos graxos ômega 3 e ômega 6 é essencial para a saúde, evitando um permanente estado pró-inflamatório prejudicial.

6. DISCUSSÃO

O processo de envelhecimento têm despertado amplo interesse no meio científico, porém, muitas questões a respeito das inevitáveis mudanças fisiológicas que o acompanham permanecem indefinidas. A investigação e o entendimento de tais mudanças são de suma importância na preservação da saúde e da qualidade de vida dos idosos. As teorias que tentam explicar o fenômeno do envelhecimento por vezes se sobrepõem, sendo a teoria do estresse oxidativo a mais aceita atualmente, em parte devido ao seu envolvimento com outras teorias, por exemplo, na "teoria das mutações somáticas" ou na "teoria do erro-catástrofe" uma vez que danos oxidativos provocam a mutagênese do DNA e poderiam comprometer a função do ribossomo, respectivamente (Luo et al., 2006).

A influência do estresse oxidativo no envelhecimento foi demonstrada no presente estudo. De acordo com os resultados encontrados, os idosos apresentaram alterações nos biomarcadores de dano oxidativo. Além disso, a incidência de comorbidades foi similar em ambos os grupos de idosos, com maior prevalência de hipertensão, diabetes, dislipidemias, entre outras doenças crônicas não transmissíveis.

Entre os grupos de idosos estudados, os institucionalizados demonstraram um maior estado de desequilíbrio oxidativo do que os não-institucionalizados, com maiores níveis do biomarcador de peroxidação lipídica (MDA). Entretanto, os níveis encontrados no presente estudo em ambos os grupos de idosos estavam elevados em comparação com os níveis relatados por Roehrs e colaboradores (2011) para adultos saudáveis (Roehrs et al., 2011), e foram maiores do que aqueles encontrados para ambos os grupos de idosos, institucionalizados ou não, em um estudo anterior do grupo (Paniz et al., 2007). Uma maior vulnerabilidade a danos oxidativos aos lipídios no envelhecimento já foi observada, mesmo com dietas contendo quantidades adequadas de antioxidantes exógenos (Tangney, 2001).

Os idosos institucionalizados apresentaram também as maiores concentrações de PCO, biomarcador de dano proteico, assim como uma reduzida atividade da enzima antioxidante GPx. O dano oxidativo às proteínas pode ser induzido por várias formas de ERO e é responsável pelo aumento da instabilidade termodinâmica, o qual provoca mudanças nas estruturas terciárias das proteínas. Tais alterações podem resultar na

agregação proteica, a qual tem sido descrita como uma das vias chave pela qual o dano oxidativo contribui para o envelhecimento (Weber et al., 2012; Squier, 2001; Singh, 2006), e ainda na inativação da função enzimática, o que foi corroborado pela correlação inversa encontrada entre PCO e atividade da GPx.

A ALA-D é uma enzima envolvida na síntese do heme, essencial para todos os organismos aeróbicos. É também um biomarcador de dano oxidativo por requerer grupos tiólicos reduzidos para sua atividade (Valentini et al., 2007), os quais são altamente sensíveis à oxidação por elementos pró-oxidantes. A inibição desta enzima acarreta no acúmulo de seu substrato, o ácido δ -aminolevulínico (ALA), o qual é um potencial pró-oxidante (Princ et al., 1998) e tem sido descrito como neurotóxico (Krieg, Jr. et al., 2009; Weuve et al., 2006) devido ao seu efeito inibitório em algumas sinapses (Krieg, Jr. et al., 2009). Além disso, o ALA é um análogo do neurotransmissor GABA. Diversos estudos inicialmente relacionaram esse fato ao seu mecanismo de neurotoxicidade, uma vez que ele poderia atuar sobre o sistema GABAérgico, porém os resultados são controversos (McLoughlin e Cantrill, 1984; Becker et al., 1980; Shanley et al., 1975; Minnema e Michaelson, 1986; Percy et al., 1981; Brennan e Cantrill, 1981). Outro mecanismo foi sugerido mais recentemente (Emanuelli et al., 2001) e consiste na inibição direta da adenilato ciclase pelo ALA, diminuindo significativamente a produção basal do segundo mensageiro AMPc, uma importante molécula na transdução de sinal nas células (Emanuelli et al., 2001).

Foi demonstrada a inibição da atividade da ALA-D em idosos corroborando com outros trabalhos do grupo previamente publicados (Baierle et al., 2010; Paniz et al., 2007), porém, no presente estudo a inibição desta enzima foi associada com declínio cognitivo. De acordo com a análise de regressão, mesmo após o ajuste para possíveis fatores de confusão, a atividade da ALA-D manteve-se associada a um melhor desempenho cognitivo no teste de Dígitos, uma tarefa que avalia a memória de trabalho. Além disso, o envolvimento de grupos $-SH$ na inibição da ALA-D foi examinado testando o efeito de ditioneitol (DTT) sobre a enzima, o qual causou um aumento na sua atividade em ambos os grupos. Tal índice de reativação foi associado negativamente com o teste de Evocação das Praxias, o qual avalia principalmente a memória visual, mostrando que a inibição da enzima representada pela maior reativação está associada à incapacidade de realizar este teste. Portanto, estas

associações podem estar relacionadas com a neurotoxicidade do substrato ALA (Krieg et al., 2009; Weuve et al., 2006), que pode estar sendo acumulado ao longo da vida.

Em relação aos níveis de metais, não foi observada diferença significativa entre os grupos, exceto para o chumbo que estava aumentado nos idosos em comparação com os jovens ($p < 0.05$), no entanto, seus valores encontravam-se dentro dos valores de referência propostos pela Organização Mundial de Saúde (OMS) (WHO, 1996). Já o Fe e os metais tóxicos: Al, Cd, Hg, Cr e V estavam acima dos níveis recomendados pela OMS, em ambos os grupos estudados. Adicionalmente, de acordo com a análise de regressão linear múltipla, o aumento dos níveis de V e Hg foram preditores do pior desempenho cognitivo no MEEM e nos testes de trilhas (TMT), respectivamente. A neurotoxicidade da exposição excessiva ao Hg pode ser causada pela sua ligação a grupos sulfidríla e bloqueio dos canais de cálcio, interferindo no funcionamento neuronal normal (Carpenter, 2001), já os efeitos da exposição ao V sobre a cognição permanecem desconhecidos. Em contraste, o Selênio, um importante antioxidante, foi associado com uma maior agilidade na execução do teste TMT A, demonstrando um possível envolvimento desse elemento traço com o parâmetro de atenção.

No presente estudo, não houve associação entre os níveis de metais e a atividade da ALA-D, apesar disso já ter sido relatado na literatura (Rocha et al., 2012). No entanto, quando o DTT foi utilizado para reverter a inibição da ALA-D induzida por agentes oxidantes, a reativação enzimática foi similar entre os grupos, por conseguinte, não o suficiente para restaurar a atividade enzimática no grupo idoso em comparação com o grupo jovem. Neste caso, pode-se sugerir que outros mecanismos além da oxidação de grupamentos tiólicos estão envolvidos na inibição da enzima (Valentini et al., 2007). Corrobora com isso a associação inversa encontrada nos modelos de regressão entre a reativação da enzima com DTT e os metais Pb, Al, Hg, As, Cr, Ni, V e Fe. De fato, entre outros fatores, alguns metais possuem elevada afinidade por tióis, e podem ligar-se fortemente ao sítio ativo da ALA-D, deslocando o cofator Zn e impedindo o funcionamento correto da enzima (Rocha et al., 2012), mesmo com níveis adequados de Zn. Dessa forma, o DTT pode ser incapaz de romper uma ligação tão forte, então a enzima permanece inibida, suportando a hipótese de que a perda da cognição em pacientes idosos poderia estar associada ao acúmulo de ALA.

Em relação aos antioxidantes exógenos: licopeno, β -caroteno, α -tocoferol e retinol, os idosos institucionalizados apresentaram os menores níveis em comparação com os idosos não-institucionalizados. Sabe-se que isso varia conforme a dieta e que a hiponutrição ocorre com frequência nos grupos mais frágeis da população (Donini et al., 2013; Garcia et al., 2012). Assim, os idosos, e especialmente aqueles que vivem em casas de repouso, têm grande risco de certas deficiências nutricionais (Mila et al., 2012). Apesar dos níveis encontrados aqui estarem dentro dos valores de referência, estes valores são para adultos e podem não ser suficientes e ideais para os idosos, considerando que devido ao maior estado de estresse oxidativo que esses indivíduos se encontram, maiores concentrações de antioxidantes poderiam ser necessárias.

Quanto ao possível efeito da inflamação sobre o declínio cognitivo, foi demonstrado que as citocinas pró-inflamatórias, IL-1 β , IL-6, TNF- α e IFN- γ correlacionaram positivamente com níveis de PCO e inversamente com a atividade da GPx, demonstrando a estreita relação entre estresse oxidativo e inflamação. Alguns autores sugerem que o acúmulo de células danificadas, o qual aumenta com a idade, pode contribuir para o aumento de citocinas inflamatórias na circulação (Campisi et al., 2011), que, por sua vez, podem promover uma variedade de doenças crônicas degenerativas (Duarte et al., 2009). Entretanto, é difícil definir a causalidade, e pode-se pensar que independente do que ocorra primeiro, uma vez iniciado, o estresse oxidativo favorece a inflamação e vice-versa (Ventura et al., 2009). Pois, sabe-se que o estresse oxidativo tem uma relação estreita com patologias relacionadas com a idade e, conseqüentemente, com os processos inflamatórios (Campisi et al., 2011).

O aumento de IL-1 β e TNF- α foi associado com o pior desempenho no Mini-Exame do Estado Mental (MEEM), ou seja, com uma diminuição da memória, orientação, atenção e habilidades espaciais. Este achado pode ser explicado, em parte, porque os processos de aprendizagem e memória dependem do hipocampo e esta região do cérebro expressa maiores concentrações de receptores IL-1 do que outras regiões, tornando-se assim vulnerável às conseqüências negativas da neuroinflamação (Terrando et al., 2010). Assim, a distribuição da expressão de citocinas inflamatórias é parcialmente responsável pelos efeitos diferenciais sobre certas funções cognitivas, e, no entanto, certas regiões cerebrais podem ser mais vulneráveis a estes efeitos (Simen et al., 2011). Do mesmo modo, o TNF- α elevado pode contribuir para uma

desregulação da homeostase sináptica causando déficits de memória (Belarbi et al., 2012). Além disso, o envolvimento das citocinas na expressão de genes relacionados à aprendizagem e memória tem sido descrita (Simen et al., 2011). Contudo, na análise de regressão linear múltipla do presente estudo, as citocinas, assim como a idade, não apresentaram valor significativo.

O aumento de citocinas pró-inflamatórias é frequentemente observado durante períodos de infecção, entretanto, parece estar relacionado com o aumento da idade (Simen et al., 2011). Citocinas são proteínas do sistema imunológico com muitas funções críticas para a defesa do hospedeiro contra patógenos, mediando a imunidade natural e regulando processos inflamatórios (Bhagavan, 2002a; Cruse e Lewis, 2004; Abbas et al., 2007). Muitas doenças vasculares crônicas são processos iniciados e propagados pela inflamação local de grandes e médias artérias (Renna et al., 2013), portanto o risco de desenvolvimento de doença neurodegenerativa relacionada com a idade está associado com o aumento dos níveis sanguíneos de citocinas inflamatórias, tais como IL-6, TNF- α , entre outras (Simen et al., 2011).

No entanto, de acordo com o modelo estatístico utilizado, a atividade da GPx foi considerada o melhor preditor para o desempenho cognitivo, demonstrando o envolvimento de antioxidantes endógenos neste processo. Antioxidantes endógenos atuam como a primeira linha de defesa na destruição de ERO *in vivo*, impedindo que o processo de oxidação se inicie. Assim, todos os fatores que prejudicam a atividade das enzimas antioxidantes promovem o estresse oxidativo (Roehrs et al., 2009). Além disso, após ajuste para fatores de confusão, os modelos de regressão múltipla escolhidos responderam por cerca de 30% do declínio cognitivo, mostrando que vários outros fatores contribuem no desenvolvimento deste último.

Através da avaliação cognitiva foi possível observar pior desempenho nos grupos de idosos comparados aos jovens. Particularmente, os idosos mostraram habilidades de memória visual e flexibilidade mental reduzidas. Entre os idosos, os institucionalizados foram os que apresentaram maior comprometimento da cognição, evidenciado pela diferença significativa dos escores nos testes realizados. O Mini-Exame do Estado Mental (MEEM), um exame global da cognição, mostrou declínio cognitivo nos idosos institucionalizados, os quais tiveram resultado inferior ao ponto de corte deste teste (Folstein et al., 1975; Bertolucci et al., 1994). Isso foi confirmado pelo

comprometimento de funções cognitivas específicas, tais como orientação, retenção ou registro de dados, aprendizado, atenção, memória e linguagem, observados nos demais instrumentos da avaliação cognitiva.

Síndromes demenciais representam um importante problema de saúde pública e são caracterizadas pelo declínio progressivo da memória e de outras funções como a linguagem, praxia, desenvolvimento psicossocial, entre outras (Machado et al., 2011). De acordo com o grau de comprometimento, a redução da função cognitiva pode resultar em incapacidade física, social e emocional, tanto para a pessoa idosa afetada quanto para seus parentes (Beckert et al., 2012). Isto se torna particularmente mais importante no caso dos idosos institucionalizados, uma vez que o próprio fato de viver em instituições leva a uma redução de sua autonomia, podendo resultar em redução da qualidade de vida devido a mudanças no estilo de vida e ao isolamento das suas relações sociais (Paniz et al., 2007).

A base biológica do declínio cognitivo associado à idade não é conhecida atualmente com segurança, em parte porque o envelhecimento em humanos está associado com numerosas condições que dificultam a atribuição de causalidade (Simen et al., 2011). Portanto, as alterações na função cognitiva foram associadas tanto ao estresse oxidativo quanto aos marcadores inflamatórios.

Na verdade, o sistema nervoso central é particularmente vulnerável ao estresse oxidativo devido a sua alta taxa de consumo de oxigênio, a abundância de ferro e os baixos níveis de antioxidantes (di Penta et al., 2013). Portanto, o maior dano proteico e a menor atividade da GPx contribuem para a desmielinização e dano axonal, que podem ser causas da disfunção cognitiva. De acordo com Penta e colaboradores (2013), axônios e mielina podem ser danificados tanto pela indução do estresse oxidativo quanto pela liberação de citocinas pró-inflamatórias, após a ativação da microglia (di Penta et al., 2013), e estão envolvidos na patogênese de várias doenças cerebrais crônicas. Neste sentido, os antioxidantes exógenos constituem uma resposta alternativa contra o estresse oxidativo (Moro et al., 2013), assim, a associação do licopeno com um melhor desempenho cognitivo, demonstra a possível ação protetora desse micronutriente. O licopeno é capaz de evitar a peroxidação lipídica em membranas sinápticas (Mora, 2013) e de preservar a atividade de antioxidantes endógenos, além de regular o metabolismo do colesterol (Yue et al., 2012). A sua ação

protetora também foi observada por meio da correlação negativa encontrada com o marcador inflamatório IL-1 β . De fato, os fatores nutricionais que têm maior probabilidade de estarem relacionados com a etiologia de déficits cognitivos são aqueles que têm efeitos vasculares e que afetam a saúde neuronal (Bales et al., 2009).

Nessa linha, quando os idosos foram separados conforme o desempenho cognitivo no exame global (MEEM), com pontos de corte adequados à escolaridade (Kochhann et al., 2010), foi possível observar que aqueles que apresentaram comprometimento cognitivo possuíam baixos níveis de DHA, um dos principais ácidos graxos poliinsaturados da série ômega 3. Além disso, os níveis dos ácidos graxos mirístico (14:0), palmítico (16:0) e palmitoléico (16:1n-7) estavam elevados no grupo de idosos com declínio, enquanto que os ácidos behênico (22:0), nervônico (24:1n-9) e o somatório de PUFAs estavam diminuídos em comparação ao grupo controle ($p < 0.05$). Neste cenário, foram encontradas correlações entre a diminuição dos níveis de DHA e o declínio cognitivo, corroborando com estudos que mostraram que este ácido graxo promove a sobrevivência neuronal, além de vários outros mecanismos investigados *in vitro* e *in vivo* para tais efeitos, como o potencial antioxidante deste nutriente (Schmitz e Ecker, 2008; Bazan, 2007; Akbar et al., 2005). O somatório de PUFAs n-3 e os níveis de 24:1n-9 também correlacionaram com a melhor performance cognitiva, estando de acordo com estudos prévios (Akbar et al., 2005; Chen et al., 2004). A associação negativa entre a performance cognitiva e os ácidos graxos saturados 14:0 e 16:0, leva a crer que por estas gorduras elevarem os níveis de colesterol total e LDL (Micha e Mozaffarian, 2010), estes idosos, que também apresentaram alto perfil lipídico, têm uma maior predisposição ao declínio cognitivo devido a essa comorbidade (Micha e Mozaffarian, 2010). Já a associação inversa da cognição com os ácidos graxos 16:1n-7 e a razão n-6/n-3 está de acordo com a ação pró-inflamatória dos mesmos (Simopoulos, 1999; Perreault et al., 2014; Snigdha et al., 2012).

Em geral, o grupo de idosos caracterizado pelo maior declínio cognitivo apresentou um perfil pró-inflamatório com altos níveis de Hcy comparado ao controle e aos valores de referência (Burtis et al., 2008) e também maiores níveis de proteína C reativa (PCR). Interessantemente, os níveis de Hcy foram associados a baixos níveis de ácidos graxos ômega 3, DHA e EPA, e a uma alta relação n-6/n-3. A Hcy é um fator de risco para doenças vasculares, no entanto, os mecanismos pelos quais os PUFAs n-

3 auxiliam na diminuição da Hcy ainda não estão bem compreendidos (Huang et al., 2011).

Os efeitos deletérios da Hcy não estão limitados a doenças vasculares (Ford et al., 2012), assim, altos níveis de Hcy também foram associados ao pior desempenho cognitivo. Este achado pode ser explicado pelo fato de que a Hcy contribui para o aumento da inflamação vascular, em parte, através do estresse oxidativo (Zanin et al., 2010), perturbando as defesas antioxidantes (enzimáticas e não enzimáticas) e induzindo a produção de espécies reativas por ativação de receptores glutamatérgicos e / ou auto-oxidação à homocistina e outros dissulfetos (Zanin et al., 2010). Considerando a maior vulnerabilidade do cérebro ao estresse oxidativo, esta pode ser uma razão para explicar tais associações.

De forma geral, este estudo mostrou que os idosos apresentaram dano lipídico e proteico. Além disso, foi visto que o equilíbrio de nutrientes essenciais pode influenciar grandemente as funções do sistema nervoso, bem como a saúde vascular (Bales et al., 2009). Uma exposição a diferentes metais ao longo da vida é inevitável e também pode ser um fator envolvido na saúde humana. Este estudo, entretanto, é limitado pelo tamanho reduzido da amostra. Em conclusão, o dano oxidativo excessivo pode ser sugerido como um fator de risco para o declínio cognitivo que acaba culminando no desenvolvimento de desordens neurológicas.

7. CONCLUSÕES

- ✓ Há uma associação entre os efeitos das citocinas pró-inflamatórias e o estresse oxidativo sobre a função cognitiva e de acordo com os resultados maior declínio cognitivo foi observado no grupo de idosos institucionalizados.
- ✓ O estresse oxidativo parece ser mais crítico no declínio cognitivo do que a inflamação, nessa linha, a GPx e o licopeno parecem desempenhar um papel fundamental na preservação das funções cognitivas em relação à orientação, memória, atenção e habilidades de linguagem.
- ✓ A inibição da atividade da enzima ALA-D e, provavelmente o acúmulo do seu substrato podem estar associados com a fisiopatologia do declínio cognitivo em idosos.
- ✓ A atividade de ALA-D pode ser um fator adicional na preservação da capacidade cognitiva.
- ✓ O acúmulo de metais tóxicos, como o chumbo, assim como o Fe em excesso, parece estar envolvido com a inibição da ALA-D, por impedir sua correta atividade, mesmo na presença de cofator, contribuindo indiretamente para o declínio da função cognitiva.
- ✓ A maioria dos metais tóxicos estava acima dos limites estabelecidos pela OMS e podem estar diretamente ligados ao declínio cognitivo. Particularmente, foi mostrado que o V associou-se com a redução da cognição global enquanto o Hg, com as funções específicas de atenção e flexibilidade mental.
- ✓ O selênio parece ser um importante aliado na preservação da capacidade cognitiva, principalmente no parâmetro de atenção.
- ✓ Os PUFAs n-3, especialmente o DHA, e o ácido nervônico foram associados com o melhor desempenho cognitivo. Em contraste, uma alta razão n-6/n-3, o ácido palmitoléico e os ácidos graxos saturados mirístico e palmítico se associaram negativamente com o desempenho cognitivo.
- ✓ Os idosos caracterizados por declínio cognitivo através do MEEM apresentaram uma maior predisposição para doenças crônicas, como aterosclerose, uma vez que apresentaram elevado perfil lipídico e um perfil pró-inflamatório evidenciado pelos

altos níveis de PCR e Hcy; além de baixos níveis de DHA, o qual parece ter ação protetora sobre a cognição.

- ✓ Altos níveis de Hcy foram diretamente associados com a diminuição dos níveis de n-3 PUFA's e com uma alta relação n-6/n-3, demonstrando o possível envolvimento destes nutrientes no metabolismo da Hcy, bem como a existência de uma estreita relação com a inflamação.
- ✓ Os efeitos deletérios da Hcy, que é um conhecido fator de risco para doenças vasculares, também podem estar envolvidos no declínio da função cognitiva.
- ✓ O declínio cognitivo é um processo complexo e multifatorial, que sofre a influência de diversos outros fatores.

8. REFERÊNCIAS

ABBAS, A. K.; LICHTMAN, A. H.; PILLAI, S. **Cellular and Molecular Immunology**. 6. Philadelphia, USA: Saunders Elsevier, 2007. 567 p. ISBN 978-0-8089-2358-9.

AISEN, P. S. et al. High-dose B vitamin supplementation and cognitive decline in Alzheimer disease: a randomized controlled trial. **JAMA**, v. 300, n. 15, p. 1774-1783, 2008.

AKBAR, M. et al. Docosahexaenoic acid: a positive modulator of Akt signaling in neuronal survival. **Proc Natl Acad Sci USA**, v. 102, n. 31, p. 10858-10863, 2005.

AMES, B. N.; SHIGENAGA, M. K.; HAGEN, T. M. Oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of aging. **Proc Natl Acad Sci USA**, v. 90, n. 17, p. 7915-7922, 1993.

ASHFAQ, S. et al. The relationship between plasma levels of oxidized and reduced thiols and early atherosclerosis in healthy adults. **J Am Coll Cardiol**, v. 47, n. 5, p. 1005-1011, 2006.

ASHOK, B. T. ; ALI, R. The aging paradox: free radical theory of aging. **Exp Gerontol**, v. 34, n. 3, p. 293-303, 1999.

ASSIS, M.; HARTZ, Z. M. A.; VALLA, V. V. Programas de promoção da saúde do idoso: uma revisão da literatura científica no período de 1990 a 2002. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 9, n. 3, p. 557-581, 2004.

BADER, N. et al. Effect of hyperbaric oxygen and vitamin C and E supplementation on biomarkers of oxidative stress in healthy men. **Br J Nutr**, v. 98, n. 4, p. 826-833, 2007.

BAIERLE, M. et al. Possíveis efeitos do cobre sanguíneo sobre parâmetros hematológicos em idosos. **J Bras Patol Med Lab**, v. 46, n. 6, p. 463-470, 2010.

BALES, C. W.; RITCHIE, C. S.; WELLMAN, N. S. **Handbook of Clinical Nutrition and Aging**. C. W. Bales, C. S. Rotchie. 2. New York, USA: Humana Press, 2009. ISBN 978-1-60327-384-8.

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

BAZAN, N. G. Omega-3 fatty acids, pro-inflammatory signaling and neuroprotection. **Curr Opin Clin Nutr Metab Care**, v. 10, n. 2, p. 136-141, 2007.

BECKER, D. M.; CAYANIS, E.; KRAMER, S. The effect of delta-aminolevulinic acid on the synthesis and metabolism of GABA in rabbit brain homogenates. **S Afr Med J**, v. 57, n. 12, p. 458-460, 1980.

BECKERT, M.; IRIGARAY, T. Q.; TRENTINI, C. M. Qualidade de vida, cognição e desempenho nas funções executivas de idosos. **Estudos de Psicologia**, v. 29, n. 2, p. 155-162, 2012.

BEHR, G. A. et al. Increased cerebral oxidative damage and decreased antioxidant defenses in ovariectomized and sham-operated rats supplemented with vitamin A. **Cell Biol Toxicol**, v. 28, n. 5, p. 317-330, 2012.

BELARBI, K. et al. TNF-alpha protein synthesis inhibitor restores neuronal function and reverses cognitive deficits induced by chronic neuroinflammation. **J Neuroinflammation**, v. 9, p. 23, 2012.

BELLÓ, A. **Dano oxidativo e regulação biológica pelos radicais livres**. Porto Alegre: ULBRA, 2002. 19 p.

BENDICH, A. Carotenoids and the immune response. **J Nutr**, v. 119, n. 1, p. 112-115, 1989.

BENZIE, I. F. F. ; STRAIN, J. J. Effect of vitamin C supplementation on plasma vitamin C and E levels. **Asian Pacific Journal of Clinical Nutrition**, v. 8, p. 207-210, 1999.

BERDANIER, C. D.; DWYER, J.; FELDMAN, E. B. **Handbook of Nutrition and Food**. C. D. Berdanier, J. Dwyer, E. B. Feldman. 2. Boca Raton, Florida: CRC Press, 2008. ISBN 978-0-8493-9218-4.

BERR, C. et al. Systemic oxidative stress and cognitive performance in the population-based EVA study. Etude du Vieillissement Arteriel. **Free Radic Biol Med**, v. 24, n. 7-8, p. 1202-1208, 1998.

BERTOLUCCI, P. H. F. et al. O minixame do estado mental em uma população geral. Impacto da escolaridade. **Arquivos de Neuropsiquiatria**, v. 52, p. 1-7, 1994.

BHAGAVAN, N. V. Molecular Immunology. In: _____. **Medical Biochemistry**. Orlando, Florida: Harcourt/Academic Press, 2002a. Cap. 35 , p. 803-837. ISBN 978-0-12-095440-7.

_____. Vitamin Metabolism. In: _____. **Medical Biochemistry**. Orlando, Florida: Harcourt/Academic Press, 2002b. Cap. 38 , p. 901-928. ISBN 978-0-12-095440-7 .

BIESALSKI, H. K. Free radical theory of aging. **Curr Opin Clin Nutr Metab Care**, v. 5, n. 1, p. 5-10, 2002.

BONITHON-KOPP, C. et al. Combined effects of lipid peroxidation and antioxidant status on carotid atherosclerosis in a population aged 59-71 y: The EVA Study. Etude sur le Vieillissement Arteriel. **Am J Clin Nutr**, v. 65, n. 1, p. 121-127, 1997.

BOSTOM, A. G. et al. Nonfasting plasma total homocysteine levels and stroke incidence in elderly persons: the Framingham Study. **Ann Intern Med**, v. 131, n. 5, p. 352-355, 1999.

BRASIL, M.S. (1997). **Saúde da Família: Uma estratégia para a reorientação do modelo assistencial**. Disponível em: <http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/cd09_16.pdf> Acesso em: 25 mai. 2014.

BRASIL. (2006). **Política Nacional de Saúde da Pessoa Idosa**. Disponível em: <<http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/2528%20aprova%20a%20politica%20nacional%20de%20saude%20da%20pessoa%20idosa.pdf>> Acesso em: 25 mai. 2014.

BRASIL. (2011). **Indicadores e Dados Básicos IDB**. Disponível em: <<http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/idb2011/matriz.htm>> Acesso em: 1 jun. 2014.

BRENNAN, M. J. ; CANTRILL, R. C. Delta-Aminolaevulinic acid and amino acid neurotransmitters. **Mol Cell Biochem**, v. 38 Spec No, n. Pt 1, p. 49-58, 1981.

BROSNAN, J. T. et al. Methylation demand: a key determinant of homocysteine metabolism. **Acta Biochim Pol**, v. 51, n. 2, p. 405-413, 2004.

BURTIS, C.; ASHWOOD, E.; BRUNS, D. E. **Fundamentos de Química Clínica**. 6. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008.

CALVIELLO, G. et al. Experimental evidence of omega-3 polyunsaturated fatty acid modulation of inflammatory cytokines and bioactive lipid mediators: their potential role in inflammatory, neurodegenerative, and neoplastic diseases. **Biomed Res Int**, v. 2013, p. 743171, 2013.

CAMPISI, J. et al. Cellular senescence: a link between cancer and age-related degenerative disease? **Semin Cancer Biol**, v. 21, n. 6, p. 354-359, 2011.

CANFIELD, R. L. et al. Intellectual impairment in children with blood lead concentrations below 10 microg per deciliter. **N Engl J Med**, v. 348, n. 16, p. 1517-1526, 2003.

CARAMONI, P. R. A.; ZAGO, A. J. Disfunção endotelial e doença arterial coronariana. **Arq Bras Cardiol**, v. 75, p. 163-172, 2000.

CARMEL, R. et al. Update on cobalamin, folate, and homocysteine. **Hematology Am Soc Hematol Educ Program**, p. 62-81, 2003.

CARPENTER, D. O. Effects of metals on the nervous system of humans and animals. **Int J Occup Med Environ Health**, v. 14, n. 3, p. 209-218, 2001.

CATANIA, A. S.; BARROS, C. R.; FERREIRA, S. R. G. Vitaminas e minerais com propriedades antioxidantes e risco cardiometabólico: controvérsias e perspectivas. **Arq Bras Endocrinol Metab**, v. 53, n. 5, p. 550-559, 2009.

CHAN, A. C. Partners in defense, vitamin E and vitamin C. **Can J Physiol Pharmacol**, v. 71, n. 9, p. 725-731, 1993.

CHANDALIA, M. et al. Hyperhomocysteinemia in Asian Indians living in the United States. **J Clin Endocrinol Metab**, v. 88, n. 3, p. 1089-1095, 2003.

CHEN, J. R. et al. Dietary patterns and blood fatty acid composition in children with attention-deficit hyperactivity disorder in Taiwan. **J Nutr Biochem**, v. 15, n. 8, p. 467-472, 2004.

CHERUBINI, A. et al. Vitamin E levels, cognitive impairment and dementia in older persons: the InCHIANTI study. **Neurobiol Aging**, v. 26, n. 7, p. 987-994, 2005.

CHERUBINI, A. et al. High vitamin E plasma levels and low low-density lipoprotein oxidation are associated with the absence of atherosclerosis in octogenarians. **J Am Geriatr Soc**, v. 49, n. 5, p. 651-654, 2001.

CHERVONA, Y.; ARITA, A.; COSTA, M. Carcinogenic metals and the epigenome: understanding the effect of nickel, arsenic, and chromium. **Metallomics**, v. 4, n. 7, p. 619-627, 2012.

CRUSE, J. M. ; LEWIS, R. E. Cytokines and Chemokines. In: J.M.CRUSE ; R. E. LEWIS (Eds.). **Atlas of Immunology**. Boca Raton, Florida: CRC Press LLC, 2004. Cap. 10 , p. ISBN 0-8493-1567-0.

DALLE-DONNE, I. et al. Protein carbonylation in human diseases. **Trends Mol Med**, v. 9, n. 4, p. 169-176, 2003.

DAS, N. P. Effects of vitamin A and its analogs on nonenzymatic lipid peroxidation in rat brain mitochondria. **J Neurochem**, v. 52, n. 2, p. 585-588, 1989.

DI PENTA, A. et al. Oxidative stress and proinflammatory cytokines contribute to demyelination and axonal damage in a cerebellar culture model of neuroinflammation. **PLoS One**, v. 8, n. 2, p. e54722, 2013.

DOLARA, P.; BIGAGLI, E.; COLLINS, A. Antioxidant vitamins and mineral supplementation, life span expansion and cancer incidence: a critical commentary. **Eur J Nutr**, v. 51, n. 7, p. 769-781, 2012.

DONINI, L. M. et al. Malnutrition in elderly: social and economic determinants. **J Nutr Health Aging**, v. 17, n. 1, p. 9-15, 2013.

DORIA, E. et al. Relationship between human aging muscle and oxidative system pathway. **Oxid Med Cell Longev**, v. 2012, p. 830257, 2012.

DUARTE, M. M. et al. Association between ischemia-modified albumin, lipids and inflammation biomarkers in patients with hypercholesterolemia. **Clin Biochem.**, v. 42, n. 7-8, p. 666-671, 2009.

EMANUELLI, T. et al. Inhibition of adenylate cyclase activity by 5-aminolevulinic acid in rat and human brain. **Neurochem Int**, v. 38, n. 3, p. 213-218, 2001.

ESSAMA-TJANI, J. C. et al. Folate status worsens in recently institutionalized elderly people without evidence of functional deterioration. **J Am Coll Nutr**, v. 19, n. 3, p. 392-404, 2000.

ESTRADA, A. et al. Quality of life in institutionalized elderly people of Medellin. **Biomedica**, v. 31, n. 4, p. 492-502, 2011.

FERNANDEZ-CUARTERO, B. et al. Delta aminolevulinate dehydratase (ALA-D) activity in human and experimental diabetes mellitus. **Int J Biochem Cell Biol**, v. 31, n. 3-4, p. 479-488, 1999.

FERREIRA, A. L. A. ; MATSUBARA, L. S. Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. **Rev Ass Med Brasil**, v. 43, n. 1, p. 61-68, 1997.

FINKEL, T. ; HOLBROOK, N. J. Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing. **Nature**, v. 408, n. 6809, p. 239-247, 2000.

FOLSTEIN, M. F.; FOLSTEIN, S. E.;MCHUGH, P. R. "Mini-mental state". A practical method for grading the cognitive state of patients for the clinician. **J Psychiatr Res**, v. 12, n. 3, p. 189-198, 1975.

FONTANELLAS, A. et al. Erythrocyte aminolevulinate dehydratase activity as a lead marker in patients with chronic renal failure. **Am J Kidney Dis**, v. 40, n. 1, p. 43-50, 2002.

FORD, A. H. et al. Plasma homocysteine and MTHFR C677T polymorphism as risk factors for incident dementia. **J Neurol Neurosurg Psychiatry**, v. 83, n. 1, p. 70-75, 2012.

FREI, B.; STOCKER, R.; AMES, B. N. Antioxidant defenses and lipid peroxidation in human blood plasma. **Proc Natl Acad Sci USA**, v. 85, n. 24, p. 9748-9752, 1988.

FREIRE-JÚNIOR, R. C. ; TAVARES, M. F. L. Health from the viewpoint of institutionalized senior citizens: getting to know and value their opinion. **Interface - Comunic, Saúde, Educ**, v. 9, p. 147-158, 2004.

FREITAS, E. V.; PY, L. **Tratado de Geriatria e Gerontologia**. 3. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2011.

GALLUCCI, M. et al. Homocysteine in Alzheimer disease and vascular dementia. **Arch Gerontol Geriatr Suppl**, n. 9, p. 195-200, 2004.

GAO, S. et al. Trace element levels and cognitive function in rural elderly Chinese. **J Gerontol A Biol Sci Med Sci**, v. 63, n. 6, p. 635-641, 2008.

GARCIA, d. L.; ALVAREZ, J.; DE, M. F. Aging and hyponutrition; a challenge for the sustainability of the NHS. Conclusions of the 9th ABBOT-SENPE Debate Forum. **Nutr Hosp**, v. 27, n. 4, p. 1060-1064, 2012.

GILHAM, B.; PAPACHRISTODOULOU, D. K.; THOMAS, J. H. **Wills' biochemical basis of medicine**. 3. Oxford: Reed Educational and Professional Publishing Ltd, 1997. 202 p.

GILLETTE, G. S. et al. IANA task force on nutrition and cognitive decline with aging. **J Nutr Health Aging**, v. 11, n. 2, p. 132-152, 2007.

GOERING, P. L. Lead-protein interactions as a basis for lead toxicity. **Neurotoxicology**, v. 14, n. 2-3, p. 45-60, 1993.

GONCALVES, T. L. et al. Involvement of oxidative stress in the pre-malignant and malignant states of cervical cancer in women. **Clin Biochem**, v. 38, n. 12, p. 1071-1075, 2005.

GRUNE, T. ; DAVIES, K. J. Oxidative processes in aging. In: E.J.MASORO ; S. N. AUSTAD (Eds.). **Handbook of the biology of aging**. San Diego: Academic Press, 2001. p. 25-58.

GUACHALLA, L. M. ; RUDOLPH, K. L. ROS induced DNA damage and checkpoint responses: influences on aging? **Cell Cycle**, v. 9, n. 20, p. 4058-4060, 2010.

GUTTERIDGE, J. M. ; HALLIWELL, B. Free radicals and antioxidants in the year 2000. A historical look to the future. **Ann N Y Acad Sci**, v. 899, p. 136-147, 2000.

HALLIWELL, B. Free radicals, antioxidants, and human disease: curiosity, cause, or consequence? **Lancet**, v. 344, n. 8924, p. 721-724, 1994.

HARMAN, D. Free radical theory of aging. **Mutat Res**, v. 275, n. 3-6, p. 257-266, 1992.

HARRIS, A.; DEVARAJ, S.; JIALAL, I. Oxidative stress, alpha-tocopherol therapy, and atherosclerosis. **Curr Atheroscler Rep**, v. 4, n. 5, p. 373-380, 2002.

HASNAIN, B. I. ; MOORADIAN, A. D. Recent trials of antioxidant therapy: what should we be telling our patients? **Cleve Clin J Med**, v. 71, n. 4, p. 327-334, 2004.

HERRMANN, W. ; GEISEL, J. Vegetarian lifestyle and monitoring of vitamin B-12 status. **Clin Chim Acta**, v. 326, n. 1-2, p. 47-59, 2002.

HERRMANN, W. et al. Total homocysteine, vitamin B(12), and total antioxidant status in vegetarians. **Clin Chem**, v. 47, n. 6, p. 1094-1101, 2001.

HIRATA, L. L.; SATO, M. E. O.; SANTOS, C. A. M. Radicais livres e o envelhecimento cutâneo. **Acta Farm Bonaerense**, v. 23, n. 3, p. 418-424, 2004.

HOFMANN, M. A. et al. Hyperhomocysteinemia enhances vascular inflammation and accelerates atherosclerosis in a murine model. **J Clin Invest**, v. 107, n. 6, p. 675-683, 2001.

HUANG, T. et al. High consumption of Omega-3 polyunsaturated fatty acids decrease plasma homocysteine: a meta-analysis of randomized, placebo-controlled trials. **Nutrition**, v. 27, n. 9, p. 863-867, 2011.

HUERTA, J. M. et al. Lipid peroxidation, antioxidant status and survival in institutionalised elderly: a five-year longitudinal study. **Free Radic Res**, v. 40, n. 6, p. 571-578, 2006.

IBGE. **Resultados Censo 2010**. Disponível em:
<http://www.censo2010.ibge.gov.br/resultados_do_censo2010.php> Acesso em: 20 mai. 2014.

IPEA. (2011). **Comunicados do Instituto de Pesquisa Econômica Aplicada (IPEA)**. 93. Disponível em:
<http://www.ipea.gov.br/portal/images/stories/PDFs/comunicado/110524_comunicadoipea93.pdf> Acesso em: 22 mai. 2014.

JORDÃO JR, A. A. Peroxidação lipídica e etanol: papel da glutatona reduzida e da vitamina E. **Medicina**, v. 31, p. 434-494, 1998.

KEDAR, N. P. Can we prevent Parkinson's and Alzheimer's disease? **J Postgrad Med**, v. 49, n. 3, p. 236-245, 2003.

KLAASSEN, C. D.; WATKINS, J. D. **Casarett & Doull's Essentials of Toxicology**. Second. New York: McGraw-Hill Medical, 2010.

KOCHHANN, R. et al. Review of cutoff points adjusted for schooling in a large Southern Brazilian sample. **Dement Neuropsychol**, v. 4, n. 1, p. 35-41, 2010.

KONTUSH, K. ; SCHEKATOLINA, S. Vitamin E in neurodegenerative disorders: Alzheimer's disease. **Ann N Y Acad Sci**, v. 1031, p. 249-262, 2004.

KRIEG, E. F., Jr. et al. Lead and cognitive function in ALAD genotypes in the third National Health and Nutrition Examination Survey. **Neurotoxicol Teratol**, v. 31, n. 6, p. 364-371, 2009.

LA, R. A. et al. Nutritional status and cognitive functioning in a normally aging sample: a 6-y reassessment. **Am J Clin Nutr**, v. 65, n. 1, p. 20-29, 1997.

LEICHTWEIS, S. ; JI, L. L. Glutathione deficiency intensifies ischaemia-reperfusion induced cardiac dysfunction and oxidative stress. **Acta Physiol Scand**, v. 172, n. 1, p. 1-10, 2001.

LITWACK, G. **Vitamin E**. T. P. Begley, A. R. Means, B. W. O'Malley, L. Riddiford, A. H. Tashjian Jr. San Diego, California USA: Academic Press Elsevier, 2007. ISBN 978-0-12-373592-8.

LUO, Y.; PACKER, L. **Oxidative Stress and Age-Related Neurodegeneration**. Y. Luo, L. Packer. Boca Raton, Florida: CRC Press, 2006. ISBN 978-0-8493-3725-3.

MACHADO, J. C. et al. Declínio cognitivo de idosos e sua associação com fatores epidemiológicos em Viçosa, Minas Gerais. **Rev Bras Geriatr Gerontol**, v. 14, n. 1, p. 109-121, 2011.

MARIANI, E. et al. Oxidative stress in brain aging, neurodegenerative and vascular diseases: an overview. **J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci**, v. 827, n. 1, p. 65-75, 2005.

MARTINS, M. B. et al. Propriedades dos ácidos graxos poliinsaturados - Omega 3 obtidos de óleo de peixe e óleo de linhaça. **Rev Inst Ciênc Saúde**, v. 26, p. 153-156, 2008.

MARTINS, J. M.; GRUEZO, N. D. Ácido graxo w-6 na etiologia do câncer de cólon e reto. **Rev Bras de Cancerologia**, v. 55, p. 69-74, 2009.

MATTE, C. et al. Chronic hyperhomocysteinemia alters antioxidant defenses and increases DNA damage in brain and blood of rats: protective effect of folic acid. **Neurochem Int**, v. 54, n. 1, p. 7-13, 2009.

MAYNE, S. T. Antioxidant nutrients and chronic disease: use of biomarkers of exposure and oxidative stress status in epidemiologic research. **J Nutr**, v. 133 Suppl 3, p. 933S-940S, 2003.

MCLOUGHLIN, J. L. ; CANTRILL, R. C. The effect of delta-aminolaevulinic acid on the high affinity uptake of aspartic acid by rat brain synaptosomes. **Gen Pharmacol**, v. 15, n. 6, p. 553-555, 1984.

MEYDANI, M. Antioxidants and cognitive function. **Nutr Rev**, v. 59, n. 8 Pt 2, p. S75-S80, 2001.

MICHA, R.; MOZAFFARIAN, D. Saturated fat and cardiometabolic risk factors, coronary heart disease, stroke, and diabetes: a fresh look at the evidence. **Lipids**, v. 45, n. 10, p. 893-905, 2010.

MILA, V. R. et al. Assessment of food consumption, energy and protein intake in the meals offered in four Spanish nursing homes. **Nutr Hosp**, v. 27, n. 3, p. 914-921, 2012.

MILLER, E. R. et al. Meta-analysis: high-dosage vitamin E supplementation may increase all-cause mortality. **Ann Intern Med**, v. 142, p. 37-46, 2005.

MILLER, J. K.; BRZEZINSKA-SLEBODZINSKA, E.;MADSEN, F. C. Oxidative stress, antioxidants, and animal function. **J Dairy Sci**, v. 76, n. 9, p. 2812-2823, 1993.

MILLS, B. J. ; LANG, C. A. Differential distribution of free and bound glutathione and cyst(e)ine in human blood. **Biochem Pharmacol**, v. 52, n. 3, p. 401-406, 1996.

MINNEMA, D. J. ; MICHAELSON, I. A. Differential effects of inorganic lead and delta-aminolevulinic acid in vitro on synaptosomal gamma-aminobutyric acid release. **Toxicol Appl Pharmacol**, v. 86, n. 3, p. 437-447, 1986.

MIWA, S.; BECKMAN, K. B.; MULLER, F. L. **Oxidative Stress in Aging**. S. Miwa, K. B. Beckman, F. L. Muller. Totowa, USA: Humana Press, 2008.

MORA, F. Successful brain aging: plasticity, environmental enrichment, and lifestyle. **Dialogues Clin Neurosci**, v. 15, n. 1, p. 45-52, 2013.

MORO, A. M. et al. Evaluation of genotoxicity and oxidative damage in painters exposed to low levels of toluene. **Mutat Res**, v. 746, n. 1, p. 42-48, 2012.

MORO, A. M. et al. Effects of low-level exposure to xenobiotics present in paints on oxidative stress in workers. **Sci Total Environ**, v. 408, n. 20, p. 4461-4467, 2010.

MORO, A. M. et al. Genotoxicity and oxidative stress in gasoline station attendants. **Mutat Res**, v. 14, n. 754, p. 63-70, 2013.

MOSCA, L. et al. Antioxidant nutrient supplementation reduces the susceptibility of low density lipoprotein to oxidation in patients with coronary artery disease. **J Am Coll Cardiol**, v. 30, n. 2, p. 392-399, 1997.

MOTA, M. P.; FIGUEIREDO, P. A.;DUARTE, J. A. Biological Theories of Aging. **Revista Portuguesa de Ciências do Desporto**, v. 4, n. 1, p. 81-110, 2004.

MULDOON, S. B. et al. Effects of blood lead levels on cognitive function of older women. **Neuroepidemiology**, v. 15, n. 2, p. 62-72, 1996.

NEVES, L. B. Homocisteína. **J Bras Patol Med Lab**, v. 40, n. 5, p. 311-320, 2001.

NORDBERG, J. ; ARNER, E. S. Reactive oxygen species, antioxidants, and the mammalian thioredoxin system. **Free Radic Biol Med**, v. 31, n. 11, p. 1287-1312, 2001.

NOZAL, M. J. et al. Determination of glutathione, cysteine and N-acetylcysteine in rabbit eye tissues using high-performance liquid chromatography and post-column derivatization with 5,5'-dithiobis(2-nitrobenzoic acid). **J Chromatogr A**, v. 778, n. 1-2, p. 347-353, 1997.

OLSON, J. A. Provitamin A function of carotenoids: the conversion of beta-carotene into vitamin A. **J Nutr**, v. 119, n. 1, p. 105-108, 1989.

PAIVA, S. A. ; RUSSELL, R. M. Beta-carotene and other carotenoids as antioxidants. **J Am Coll Nutr**, v. 18, n. 5, p. 426-433, 1999.

PALACE, V. P. et al. Antioxidant potentials of vitamin A and carotenoids and their relevance to heart disease. **Free Radic Biol Med**, v. 26, n. 5-6, p. 746-761, 1999.

PANIZ, C. et al. The influence of the serum vitamin C levels on oxidative stress biomarkers in elderly women. **Clin Biochem**, v. 40, n. 18, p. 1367-1372, 2007.

PAÚL, M. C. **Lá para o fim da vida. Idosos, família e meio ambiente**. Coimbra: Livraria Almedina, 1997. ISBN 972-40-1000-7.

PERCY, V. A.; LAMM, M. C.; TALJAARD, J. J. delta-Aminolaevulinic acid uptake, toxicity, and effect on [14C]gamma-aminobutyric acid uptake into neurons and glia in culture. **J Neurochem**, v. 36, n. 1, p. 69-76, 1981.

PERREAULT, M. et al. Plasma levels of 14:0, 16:0, 16:1n-7, and 20:3n-6 are positively associated, but 18:0 and 18:2n-6 are inversely associated with markers of inflammation in young healthy adults. **Lipids**, v. 49, p. 255-263, 2014.

PODDAR, R. et al. Homocysteine induces expression and secretion of monocyte chemoattractant protein-1 and interleukin-8 in human aortic endothelial cells: implications for vascular disease. **Circulation**, v. 103, n. 22, p. 2717-2723, 2001.

POLIDORI, M. C. Antioxidant micronutrients in the prevention of age-related diseases. **J Postgrad Med**, v. 49, n. 3, p. 229-235, 2003.

POLJSAK, B. ; MILISAV, I. The neglected significance of "antioxidative stress". **Oxid Med Cell Longev**, v. 2012, p. 480895, 2012.

PORTER, N. A.; CALDWELL, S. E.; MILLS, K. A. Mechanisms of free radical oxidation of unsaturated lipids. **Lipids**, v.30, p.277-284, 1995.

POWER, M. C. et al. Lead exposure and rate of change in cognitive function in older women. **Environ Res**, v. 129, p. 69-75, 2014.

PRINC, F. G. et al. In vivo protection by melatonin against delta-aminolevulinic acid-induced oxidative damage and its antioxidant effect on the activity of haem enzymes. **J Pineal Res**, v. 24, n. 1, p. 1-8, 1998.

QUADRI, P. et al. Homocysteine, folate, and vitamin B-12 in mild cognitive impairment, Alzheimer disease, and vascular dementia. **Am J Clin Nutr**, v. 80, n. 1, p. 114-122, 2004.

RAJAN, P. et al. Interaction of the delta-aminolevulinic acid dehydratase polymorphism and lead burden on cognitive function: the VA normative aging study. **J Occup Environ Med**, v. 50, n. 9, p. 1053-1061, 2008.

RAMALHO, R. A.; ACCIOLY, E.; SILVA, L. M. Doenças cardiovasculares: efeitos antioxidantes das vitaminas A, C, E. **Rev Metabol Nutr**, v. 7, n. 1, 2003.

RENNA, N. F. et al. Role of Renin-Angiotensin system and oxidative stress on vascular inflammation in insulin resistance model. **Int J Hypertens**, v. 2013, p. 4209792013.

RIBEIRO, E. P.; SERAVALLI, A. G. **Química dos Alimentos**. 1. São Paulo: Edgard Blucher Ltda, 2004.

ROCHA, J. B. T. et al. Aminolevulinic acid dehydratase (d-ALA-D) as marker protein of intoxication with metals and other pro-oxidant situations. **Toxicol Res**, v. 1, p. 85-102, 2012.

ROEHRS, M. et al. The plasma retinol levels as pro-oxidant/oxidant agents in haemodialysis patients. **Nephrol Dial Transplant**, v. 24, n. 7, p. 2212-2218, 2009.

ROEHRS, M. et al. The relationships between exogenous and endogenous antioxidants with the lipid profile and oxidative damage in hemodialysis patients. **BMC Nephrol**, v. 12, p. 59, 2011.

ROSA, T. E. C. et al. Fatores determinantes da capacidade funcional entre idosos. **Rev Saúde Pública**, v. 37, p. 40-48, 2003.

SALVADOR, M.; HENRIQUES, J. A. P. Radicais livres e a resposta celular ao estresse oxidativo. Canoas: ULBRA. 2004.

SASTRE, J.; PALLARDO, F. V.; VINA, J. The role of mitochondrial oxidative stress in aging. **Free Radic Biol Med**, v. 35, n. 1, p. 1-8, 2003.

SCHMITZ, G. ; ECKER, J. The opposing effects of n-3 and n-6 fatty acids. **Prog Lipid Res**, v. 47, n. 2, p. 147-155, 2008.

SHAMI, N. J. I. E. ; MOREIRA, E. A. M. Licopeno como agente antioxidante. **Rev Nutr**, v. 17, p. 227-236, 2004.

SHAN, X. Q.; AW, T. Y.; JONES, D. P. Glutathione-dependent protection against oxidative injury. **Pharmacol Ther**, v. 47, n. 1, p. 61-71, 1990.

SHANLEY, B. C. et al. Neurochemical aspects of porphyria. Studies on the possible neurotoxicity of delta-aminolaevulinic acid. **S Afr Med J**, v. 49, n. 14, p. 576-580, 1975.

SIES, H. Oxidative stress: oxidants and antioxidants. **Exp Physiol**, v. 82, n. 2, p. 291-295, 1997.

SIMEN, A. A. et al. Cognitive dysfunction with aging and the role of inflammation. **Ther Adv Chronic Dis**, v. 2, n. 3, p. 175-195, 2011.

SIMON, J. A. et al. Serum fatty acids and the risk of coronary heart disease. **Am J Epidemiol**, v. 142, n. 5, p. 469-476, 1995.

SIMOPOULOS, A. P. Essential fatty acids in health and chronic disease. **Am J Clin Nutr**, v. 70, n. 3 Suppl, p. 560S-569S, 1999.

SINGH, K. K. **Oxidative Stress, Disease and Cancer**. Keshav K. Singh. London: Imperial College Press, 2006. ISBN 1-86094-609-7.

SNIGDHA, S. et al. Effects of diet and behavioral enrichment on free fatty acids in the aged canine brain. **Neuroscience**, v. 202, p. 326-333, 2012.

SOUZA, J. L. (2007). **Demografia - Pensando no futuro dos idosos**. 30-5-2013.

SPLAVER, A.; LAMAS, G. A.; HENNEKENS, C. H. Homocysteine and cardiovascular disease: biological mechanisms, observational epidemiology, and the need for randomized trials. **Am Heart J**, v. 148, n. 1, p. 34-40, 2004.

SQUIER, T. C. Oxidative stress and protein aggregation during biological aging. **Exp Gerontol**, v. 36, n. 9, p. 1539-1550, 2001.

STAMPFER, M. J. ; RIMM, E. B. Epidemiologic evidence for vitamin E in prevention of cardiovascular disease. **Am J Clin Nutr**, v. 62, n. 6 Suppl, p. 1365S-1369S, 1995.

SUZUKY, H. S. **Conhecimentos essenciais para atender bem os pacientes idosos**. São José dos Campos: Pulso, 2003.

SYED, E. H. et al. Quality of life and mental health status of arsenic-affected patients in a Bangladeshi population. **J Health Popul Nutr**, v. 30, n. 3, p. 262-269, 2012.

TANGNEY, C. C. Does vitamin E protect against cognitive changes as we age? **Nutrition**, v. 17, n. 10, p. 806-808, 2001.

TERRANDO, N. et al. The impact of IL-1 modulation on the development of lipopolysaccharide-induced cognitive dysfunction. **Crit Care**, v. 14, n. 3, p. R88, 2010.

TESORIERE, L. et al. Antioxidant activity of all-trans-retinol in homogeneous solution and in phosphatidylcholine liposomes. **Arch Biochem Biophys**, v. 307, n. 1, p. 217-223, 1993.

TRINDADE, L. S. et al. A novel classification system for evolutionary aging theories. **Front Genet**, v. 4, p. 25, 2013.

TRUJILLO, M.; FERRER-SUETA, G.;RADI, R. Peroxynitrite detoxification and its biologic implications. **Antioxid Redox Signal**, v. 10, n. 9, p. 1607-1620, 2008.

TYLER, C. R. ; ALLAN, A. M. The Effects of Arsenic Exposure on Neurological and Cognitive Dysfunction in Human and Rodent Studies: A Review. **Curr Environ Health Rep**, v. 1, p. 132-147, 2014.

UBEDA, N.; ACHON, M.;VARELA-MOREIRAS, G. Omega 3 fatty acids in the elderly. **Br J Nutr**, v. 107 Suppl 2, p. S137-S151, 2012.

UNFPA and HelpAge International. (2012). **Ageing in the Twenty-First Century: A Celebration and A Challenge**. Acesso em: 20 mai. 2014.

UNITED NATIONS. **World Population Prospects: The 2004 Revision Population Database**. (2004). Disponível em: <<http://esa.un.org/unpp/index.asp?panel=2>> Acesso em: 20 mai. 2014.

UNGVARI, Z.; CSISZAR, A.; KALEY, G. Vascular inflammation in aging. **Herz**, v. 8, p. 733-740, 2004.

URSO, M. L. ; CLARKSON, P. M. Oxidative stress, exercise, and antioxidant supplementation. **Toxicology**, v. 189, n. 1-2, p. 41-54, 2003.

VALENTINI, J. et al. The influence of the hemodialysis treatment time under oxidative stress biomarkers in chronic renal failure patients. **Biomed Pharmacother**, v. 62, n. 6, p. 378-382, 2008.

VALENTINI, J. et al. Human erythrocyte delta-aminolevulinatase activity and oxidative stress in hemodialysis patients. **Clin Biochem**, v. 40, n. 9-10, p. 591-594, 2007.

VELLAS, B. J.; ALBAREDE, J. L.;GARRY, P. J. Diseases and aging: patterns of morbidity with age; relationship between aging and age-associated diseases. **Am J Clin Nutr**, v. 55, n. 6 Suppl, p. 1225S-1230S, 1992.

VENÂNCIO, L. S.; BURINI, R. C.;YOSHIDA, W. B. Hiper-homocisteinemia na doença arterial periférica. **J Vasc Br**, v. 3, n. 1, p. 31-37, 2004.

VENTURA, E. et al. Homocysteine and inflammation as main determinants of oxidative stress in the elderly. **Free Radic Biol Med**, v. 46, n. 6, p. 737-744, 2009.

WEBER, D. et al. Rapid and sensitive determination of protein-nitrotyrosine by ELISA: Application to human plasma. **Free Radic Res**, v. 46, n. 3, p. 276-285, 2012.

WELCH, G. N. ; LOSCALZO, J. Homocysteine and atherothrombosis. **N Engl J Med**, v. 338, n. 15, p. 1042-1050, 1998.

WEUVE, J. et al. Delta-aminolevulinic acid dehydratase polymorphism and the relation between low level lead exposure and the Mini-Mental Status Examination in older men: the Normative Aging Study. **Occup Environ Med**, v. 63, n. 11, p. 746-753, 2006.

WHITNEY, E.; ROLFES, S. R. **Understanding Nutrition**. E. Whitney, S. R. Rolfes. 11. Belmont, CA, USA: Thomson Wadsworth, 2008. ISBN 978-0-495-11669-1.

WOOD, R. J.; SUTER, P. M.;RUSSELL, R. M. Mineral requirements of elderly people. **Am J Clin Nutr**, v. 62, n. 3, p. 493-505, 1995.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Trace elements in human nutrition and health**. Geneva, 1996.

XAVIER, F. M. F. **Prevalência de declínio cognitivo associado ao envelhecimento em população de idosos com mais de 80 anos residentes na comunidade**. 1999. - Universidade Federal de São Paulo (USP), 1999.

YU, B. P. Can antioxidant supplementation slow the aging process? **Biofactors**, v. 8, p. 93-96, 1998.

YUE, R. et al. Lycopene protects against hypoxia/reoxygenation-induced apoptosis by preventing mitochondrial dysfunction in primary neonatal mouse cardiomyocytes. **PLoS One**, v. 7, n. 11, p. e50778, 2012.

ZANIN, R. F. et al. Homocysteine decreases extracellular nucleotide hydrolysis in rat platelets. **Thromb Res**, v. 125, n. 3, p. e87-e92, 2010

ZEMPLINI, J. et al. **Handbook of Vitamins**. J. Zempleni, R. B. Rucker, D. B. McCormick, J. W. Suttie. 4. Boca Raton, Florida: CRC Press, 2007. ISBN 978-0-8493-4022-2.

ZHANG, P. ; OMAYE, S. T. beta-Carotene: interactions with alpha-tocopherol and ascorbic acid in microsomal lipid peroxidation. **J Nutr Biochem**, v. 12, n. 1, p. 38-45, 2001.

9. ANEXOS

ANEXO A – Aceite do Comitê de Ética em Pesquisa UFRGS

05/06/13

Sistema Pesquisa - Pesquisador

Sistema Pesquisa - Pesquisador: Solange Cristina Garcia

Projeto Nº: 15146

Título: AVALIACAO DA DEFICIENCIA MICRONUTRICIONAL EM IDOSOS, SEUS RISCOS PATOLOGICOS E PREVENCAO

COMITE DE ETICA EM PESQUISA DA UFRGS: Parecer

Projeto aprovado, a maioria das diligências foram atendidas. Apesar dos argumentos expostos pela pesquisadora, ainda assim recomenda-se a submissão do projeto ao Comitê de Ética da Prefeitura Municipal de Porto Alegre.

https://www1.ufrgs.br/PortalServidor/Pesquisa/Pesquisador/forms/form_index.php

1/1

ANEXO B – Aceite do Comitê de Ética em Pesquisa HCPA



HCPA - HOSPITAL DE CLÍNICAS DE PORTO ALEGRE
GRUPO DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO

COMISSÃO CIENTÍFICA E COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

A Comissão Científica e o Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (CEP/HCPA), que é reconhecido pela Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP)/MS e pelo Office For Human Research Protections (OHRP)/USDHHS, como Institutional Review Board (IRB00000921) analisaram o projeto:

Projeto: 110171

Data da Versão do Projeto: 01/06/2011

Data da Versão do TCLE: 04/07/2011

Pesquisadores:

MARÍLIA BAIERLE

FERNANDA WAECHTER

SOLANGE CRISTINA GARCIA

Título: Avaliação da deficiência micronutricional em idosos, seus riscos patológicos e prevenção

Este projeto foi APROVADO em seus aspectos éticos e metodológicos, bem como o respectivo Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, de acordo com as diretrizes e normas nacionais e internacionais de pesquisa clínica, especialmente as Resoluções 196/96 e complementares do Conselho Nacional de Saúde.

- Os membros da Comissão Científica e do Comitê de Ética em Pesquisa não participaram do processo de avaliação dos projetos nos quais constam como pesquisadores.
- Toda e qualquer alteração do projeto, assim como os eventos adversos graves, deverão ser comunicados imediatamente ao CEP/HCPA.
- O pesquisador deverá apresentar relatórios semestrais de acompanhamento e relatório final ao CEP/HCPA.
- Somente poderá ser utilizado o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido no qual conste o carimbo de aprovação do CEP/HCPA.

Porto Alegre, 06 de julho de 2011.


Profª Nadine Clausell
Coordenadora GPPG e CEP/HCPA

ANEXO C – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido para Idosos

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Grupo de Estudo - Idosos

Eu,.....fui convidado(a) pela Professora Dr^a Solange Cristina Garcia (UFRGS) para participar voluntariamente do grupo de estudo da pesquisa **“AVALIAÇÃO DA DEFICIÊNCIA MICRONUTRICIONAL EM IDOSOS, SEUS RISCOS PATOLÓGICOS E PREVENÇÃO”**. Os objetivos deste estudo serão verificar a presença de deficiências micronutricionais em idosos, avaliando o papel do envelhecimento e a possível inter-relação com moléculas que indicam a ocorrência de um determinado processo no organismo. Para isso serão realizados exames clínico-laboratoriais com o objetivo de avaliar os níveis de vitaminas antioxidantes (substâncias capazes de impedir a ação dos radicais livres, que podem causar doenças) através de exames de sangue. Além destes exames serão realizadas entrevistas com questionários sobre a avaliação nutricional, avaliação da memória e o uso de medicamentos, e ainda, será realizada uma avaliação antropométrica que compreende os parâmetros: peso, altura e dobras cutâneas. A medida das dobras cutâneas é indolor, sem riscos ao paciente e será feita com um aparelho chamado adipômetro sem maiores desconfortos. Fui esclarecido que minha participação é de livre e espontânea vontade, sem custo e que caso aceite, será realizada uma coleta de sangue venoso (10 mL) com o mínimo de risco já conhecido para esta técnica.

Estou ciente de que receberei os resultados dos exames sem custo e que a minha participação é voluntária e que posso desistir ou interromper a participação neste estudo no momento que desejar. A minha recusa não trará nenhum prejuízo ou conseqüências. Neste caso, devo informar imediatamente minha decisão ao pesquisador ou a um membro de sua equipe, sem constrangimento e sem a necessidade de qualquer explicação.

Caso o resultado de algum exame esteja alterado, este será comunicado pela equipe pesquisadora ao responsável médico da instituição (para os institucionalizados) ou ao próprio indivíduo (para não-institucionalizados) sendo este encaminhado a procurar auxílio médico.

As informações obtidas serão analisadas em conjunto com as de outros voluntários, não sendo divulgada a identificação de nenhum paciente.

Comitê de Ética em Pesquisa
GPPG/HCPA

VERSÃO APROVADA

06/07/2011

110171 TA

Eu terei garantia da não identificação e do caráter confidencial dos resultados dos exames. É compromisso do pesquisador de utilizar os dados e o material coletado somente para esta pesquisa.

Eu terei garantia do acesso, em qualquer etapa da pesquisa, aos profissionais responsáveis para esclarecimento de dúvidas sobre os procedimentos, riscos, benefícios e direitos como voluntário. Através do contato com a professora responsável pelo projeto Dr^a. Solange Cristina Garcia, cujo endereço é Av. Ipiranga, 2752, sala 605, bairro Santana, Porto Alegre – RS, fone: (51) 3308.5297, e/ou com a secretária do Comitê de Ética em Pesquisa da UFRGS (51) 3308.3629 para apresentar recursos ou reclamações em relação ao estudo. Podendo contatar também o Comitê de Ética em Pesquisa do HCPA pelo telefone (51) 3359.8304.

Declaro que recebi uma via deste documento denominado Termo de Consentimento Livre e Esclarecido e li cuidadosamente todo ele tendo a oportunidade de fazer perguntas sobre o seu conteúdo e também sobre o estudo. Recebi explicações que responderam por completo minhas dúvidas e reafirmo estar livre e espontaneamente decidido participar do estudo, sob responsabilidade da pesquisadora Dr^a. Solange Cristina Garcia (UFRGS). Estou ciente que poderei retirar o meu consentimento a qualquer momento, antes ou durante o mesmo, sem penalidades ou prejuízo ou perda de qualquer benefício que eu possa ter adquirido.

Ao assinar este Termo de Consentimento eu também estou certificando que toda a informação que eu prestei, incluindo minha história médica, é verdadeira e correta até onde é de meu conhecimento, e declaro estar recebendo uma cópia assinada deste documento.

Porto Alegre, ____ de _____ de 20__.

Assinatura do Paciente

Nome do Pesquisador que aplicou o TCLE

Assinatura do Pesquisador

Comitê de Ética em Pesquisa
GPPG/HCPA

VERSÃO APROVADA

06/07/2011

110171 TAV

ANEXO D – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido para Jovens**TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO****Grupo Controle – Adultos jovens**

Eu,.....fui convidado(a) pela Professora Dr^a Solange Cristina Garcia (UFRGS) para participar voluntariamente do grupo controle da pesquisa **“AVALIAÇÃO DA DEFICIÊNCIA MICRONUTRICIONAL EM IDOSOS, SEUS RISCOS PATOLÓGICOS E PREVENÇÃO”**. Ser indivíduo controle nesta pesquisa significa ser adulto jovem com ausência de qualquer alteração no organismo derivada do envelhecimento para posterior comparação com os resultados dos idosos. Esta comparação é necessária pois os objetivos deste estudo são verificar a presença de deficiências micronutricionais em idosos, avaliando o papel do envelhecimento e a possível inter-relação com moléculas que indicam a ocorrência de um processo no organismo. Para isso serão realizados exames clínico-laboratoriais com o objetivo de avaliar os níveis de vitaminas antioxidantes (substâncias capazes de impedir a ação dos radicais livres, que podem causar doenças) através de exames de sangue. Além destes exames serão realizadas entrevistas com questionários sobre a avaliação nutricional, memória e o uso de medicamentos, e ainda, será realizada uma avaliação antropométrica que compreende os parâmetros: peso, altura e dobras cutâneas. A medida das dobras cutâneas é indolor, sem riscos ao paciente e será feita com um aparelho chamado adipômetro sem maiores desconfortos. Fui esclarecido que minha participação é de livre e espontânea vontade, sem custo e que caso aceite, será realizada uma coleta de sangue venoso (10 mL) com o mínimo de risco já conhecido para esta técnica.

Estou ciente de que receberei os resultados dos exames sem custo e que a minha participação é voluntária e que posso desistir ou interromper a participação neste estudo no momento que desejar. A minha recusa não trará nenhum prejuízo ou conseqüências. Neste caso, devo informar imediatamente minha decisão ao pesquisador ou a um membro de sua equipe, sem constrangimento e sem a necessidade de qualquer explicação.

Caso o resultado de algum exame esteja alterado, este será comunicado pela equipe pesquisadora ao próprio indivíduo sendo este encaminhado a procurar auxílio médico.

Comitê de Ética em Pesquisa
GPPG/HCPA

VERSÃO APROVADA

06/07/2011

110171 TAV

As informações obtidas serão analisadas em conjunto com as de outros voluntários, não sendo divulgada a identificação de nenhum paciente. Eu terei garantia da não identificação e do caráter confidencial dos resultados dos exames. É compromisso do pesquisador de utilizar os dados e o material coletado somente para esta pesquisa.

Eu terei garantia do acesso, em qualquer etapa da pesquisa, aos profissionais responsáveis para esclarecimento de dúvidas sobre os procedimentos, riscos, benefícios e direitos como voluntário. Através do contato com a professora responsável pelo projeto Dr^a. Solange Cristina Garcia, cujo endereço é Av. Ipiranga, 2752, sala 605, bairro Santana, Porto Alegre – RS, fone: (51) 3308.5297, e/ou com a secretária do Comitê de Ética em Pesquisa da UFRGS (51) 3308.3629 para apresentar recursos ou reclamações em relação ao estudo. Podendo contatar também o Comitê de Ética em Pesquisa do HCPA pelo telefone (51) 3359.8304.

Declaro que recebi uma via deste documento denominado Termo de Consentimento Livre e Esclarecido e li cuidadosamente todo ele tendo a oportunidade de fazer perguntas sobre o seu conteúdo e também sobre o estudo. Recebi explicações que responderam por completo minhas dúvidas e reafirmo estar livre e espontaneamente decidido participar do estudo, sob responsabilidade da pesquisadora Dr^a. Solange Cristina Garcia (UFRGS). Estou ciente que poderei retirar o meu consentimento a qualquer momento, antes ou durante o mesmo, sem penalidades ou prejuízo ou perda de qualquer benefício que eu possa ter adquirido.

Ao assinar este Termo de Consentimento eu também estou certificando que toda a informação que eu prestei, incluindo minha história médica, é verdadeira e correta até onde é de meu conhecimento, e declaro estar recebendo uma cópia assinada deste documento.

Porto Alegre, ____ de _____ de 20__.

Assinatura do Paciente

Nome do Pesquisador que aplicou o TCLE

Assinatura do Pesquisador

Comitê de Ética em Pesquisa
GPPG/HCPA

VERSÃO APROVADA

06 / 07 / 2011

110171 TAV

ANEXO E – Questionário de Avaliação Nutricional e Social

GeroMat – Parte Nutricional

I Dados de Identificação

Data ___/___/___

Nome: _____ Paciente ID _____

Data de nascimento: ___/___/___ Idade: _____ anos Sexo: masculino femininoCor (segundo o pac.): Branca Preta Amarela Mista

Estado Civil _____

II Situação socioeconômica

Aposentado(a)? () Sim () Não

Ainda Trabalha? () Sim () Não

Profissão _____

Escolaridade:

 Analfabeto Ginásio ou Científico Inc. 1º Grau Inc. 2º Grau Comp. Primário Inc. Ginásio ou Científico Comp. 1º Grau Comp. 3º Grau Inc. Primário Comp. N° de anos de estudo: _____ 2º Grau Inc. 3º Grau Comp.Mão dominante (*destro ou canhoto?*) esquerda direita

Sistema de Saúde:

() Público – SUS () Privado () Possui Plano de Saúde

Renda própria:

() De 0 a 1 salário mínimo () De 1 a 3 salários mínimos () De 4 a 6 salários mínimos

() De 7 a 10 salários mínimos () > 10 salários mínimos

*Salário mínimo 2011: R\$ 545,00

Possui seguro de vida: () Sim () Não

Possui casa própria: () Sim () Não

Na família, outras pessoas trabalham: () Sim () Não

Renda total da família:

() De 0 a 1 salário mínimo () De 1 a 3 salários mínimos () De 4 a 6 salários mínimos

() De 7 a 10 salários mínimos () > 10 salários mínimos

*Salário mínimo 2011: R\$ 545,00

Ajuda financeiramente alguém da família (Parente, filho, neto, etc)? () Sim () Não

Nº dependentes _____

Situação de vida vive sozinho com parceiro/família institucionalizado
 institucionalizado e necessita de cuidados diários

Isolamento Social sim não

Ir para fora de casa diariamente 4-6 vezes/semana 1-3 vezes/semana
 raramente nunca _____

Necessita de alguém para levar/sair? sim não

Pratica regularmente atividades físicas? sim não

Se sim, qual? caminhada corrida bicicleta futebol outro: _____

Com que frequência e onde você pratica? _____

III Consumo alimentar e status nutricional

Mudanças na demanda de energia reduzida aumentada normal

Estado dos dentes/problemas dentários nenhum poucos/raros freqüentes muitos/grave

Dentaduras/Próteses Sim Não _____

Apetite reduzido aumentado normal

Hábito intestinal: bom diarreia constipação

Sensação de gosto (*todos os sabores da mesma maneira?*) nenhuma pouco afetada bastante afetada

Sensação de consistência nenhuma pouco afetada bastante afetada

Sensação de cheiro nenhuma pouco afetada bastante afetada

Preparação de alimentos/refeições: sozinho sozinho, mas com assistência

somente com assistência impossível

Assistência na preparação das refeições é...

parceiro/família/ajuda em casa Serviço/refeições sobre rodas equipe de enfermagem

Limitações na ingestão de alimentos:

disfagia problemas dentários/próteses problemas de mastigação _____

Hábitos Alimentares:

nada especial ovos e verduras vegetariano (ovo-laticínios) vegetariano (laticínios) só verduras

dieta especial: _____

Ingestão de alimentos:

independente (sem qualquer ajuda) ajuda parcialmente necessária

somente com ajuda impossível

Dieta atual:

dieta normal pastosa formula suplementada

enteral rejeita/evita _____

Porcentagem de refeição feita em relação ao tamanho da porção:
porção a pessoa normalmente come (média)?

(Quanto da

menos da metade do prato (<50%) metade ou quase tudo (50-75%) tudo (75-100%)

Ingestão de líquidos:

Consumo médio no dia: _____ Quais? _____

Taste functioning? (Avaliado pelo paciente)

(Ex.: Se toma algum remédio, naquela hora não sente o gosto das coisas, relacionado com tempo.)

sempre maioria das vezes às vezes raramente nunca

O paciente está satisfeito após uma refeição? (Avaliado pelo paciente)

sempre maioria das vezes às vezes raramente

Avaliação subjetiva do status nutricional:

Paciente bom moderado ruim

Examinador bom moderado ruim

IV Exame físico

Aparência do Paciente (Avaliação subjetiva)

Cabelo: ralo s/brilho seco fácil de arrancar outro _____

Olhos: cegueira noturna manchas vermelhos inflamados outro _____

Boca: gengivite estomatite angular glossite periodontite outro _____

Pele: petéquias palidez seborréia nasal dermatose seca outro _____

Unhas: quebradiças rugosas manchadas outro _____

Tecido subcutâneo: pouca reserva de gordura outro _____

Edema sim não - Se sim, localização: tornozelo joelho base da coxa anasarca
 ascite edema sacral

Neurológico: () alteração psicomotora () fraqueza motora () desorientação

Psiquiátrico: Apatia (falta de motivação, entusiasmo) Sim Não

Osteomuscular: Caquexia (perda de peso e apetite, fraqueza) Sim Não

Sarcopenia (perda de massa muscular) Sim Não

V Antropometria

Pressão Arterial _____

Altura ____ [cm]

Peso ____ [kg] Peso usual ____ [kg]

(Questão: Notou alguma diferença nas roupas? Alguém lhe falou que você está mais magro/gordo?)

Peso 1 mês atrás: menos ____ kg mais ____ kg similar

Peso 3 meses atrás: menos ____ kg mais ____ kg similar

Peso 6 meses atrás: menos ____ kg mais ____ kg similar

ALTURA ESTIMADA – Chumlea (1966)

Altura do joelho __, __ [cm]

PESO ESTIMADO – Chumlea (1966)

Circunferência do braço ____ [cm] ____ [cm] ____ [cm] média ____ [cm]

Circunferência da panturrilha ____ [cm] ____ [cm] ____ [cm] média ____ [cm]

Circunferência abdominal ____ [cm] ____ [cm] ____ [cm] média ____ [cm]

Dobras cutâneas bíceps ____ [mm] ____ [mm] ____ [mm] média ____ [mm]

Dobras cutâneas tríceps ____ [mm] ____ [mm] ____ [mm] média ____ [mm]

Dobras cutâneas supra-ilíaca ____ [mm] ____ [mm] ____ [mm] média ____ [mm]

VI Questionário Alimentar

Refeição/dia				
Principal refeição/dia	<input type="checkbox"/> nenhum	<input type="checkbox"/> três	<input type="checkbox"/> duas	<input type="checkbox"/> uma
Lanches/dia	<input type="checkbox"/> raro/nunca	<input type="checkbox"/> três	<input type="checkbox"/> duas	<input type="checkbox"/> uma
Ingestão de alimentos				
	Frutas	Legumes	Carne	Peixe
1 x /dia	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
4-6 x /semana	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
1-3 x /semana	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Raramente	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Nunca	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	Aves	Salsicha	Queijo	Amendoim
1 x /dia	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
4-6 x /semana	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
1-3 x /semana	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Raramente	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Nunca	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	Farinha/Grãos (Pão, massas)	Laticínios	Leguminosas	Ovos
1 x /dia	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
4-6 x /semana	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
1-3 x /semana	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Raramente	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Nunca	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	Álcool	Bebidas		
< 3 copos/xícara	<input type="checkbox"/>			
3-5 copos/xícara	<input type="checkbox"/>			
>5 copos/xícara	<input type="checkbox"/>			
Nunca	<input type="checkbox"/>			
1 x/mês	<input type="checkbox"/>			
Gordura utilizada	<input type="checkbox"/> manteiga	<input type="checkbox"/> margarina	<input type="checkbox"/> óleo de oliva	<input type="checkbox"/> _____
Chimarrão	<input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não		Frequência/quantidade: _____	

GeroMat – Parte Clínica

I Dados de Identificação

Nome: _____ Paciente ID _____

II Aparência do Paciente (Avaliação subjetiva)

Postura _____

Impressão _____

Dentes/próteses _____

III Estado de Saúde

Doença aguda nenhuma _____

Doença crônica nenhuma _____

Dor crônica nenhuma às vezes frequentemente sempre

Stress físico nenhum às vezes frequentemente sempre familiar
 negócios financeiro relacionado com a doença

Doença do trato gastrointestinal nenhuma refluxo disfagia (má deglutição)
 esofagite gastrite carcinoma gástrico
 carcinoma esofágico carcinoma intestinal _____

Problemas de cicatrização de feridas nunca teve já teve alguma vez várias vezes sempre

Susceptibilidade a infecções (*Infecções no último ano? Quantas?*)

raras frequentes sempre

Dermatose Não _____

Cirurgias nenhuma _____ _____

Limitação funcional (*articulações, artrose, rigidez dos membros...*)

nenhuma às vezes frequente sempre

Mobilidade nenhuma pouca frequente normal
 dentro de casa no jardim fora de casa

IV Teste "Timed up and go" é possível?

(*Cadeira sem apoio, marca-se 3 metros, cronometrar o tempo de ida e volta até sentar na mesma posição*)

Sim Não Sem andador com andador

_____ segundos aumentou o risco de queda

V Uso de suplementos alimentares (vitaminas, substâncias fito, sip feed...)

Uso de suplementos alimentares: não sim

Se sim, quais e quanto/dose: _____

É auto-medicação? não sim

É medicação receitada pelo médico? não sim

VI Uso de medicamentos

Medicamento	Dose	Indicação
1.		
2.		
3.		
4.		
5.		