UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FCF / FEA / FSP
Programa de Pós-graduação Internunidades
em Nutrição Humana Aplicada – PRONUT

Efeito de uma dieta enriquecida com castanha-do-brasil (*Bertholletia excelsa*, L.) no estado nutricional relativo ao selênio de idosos não institucionalizados.

Carla Souza Behr

Dissertação para obtenção do grau de Mestre

Orientador:
Profa. Tit. Silvia M. F. Cozzolino

São Paulo
2004

Ficha Catalográfica
Elaborada pela Divisão de Biblioteca e
Documentação do Conjunto das Químicas da USP.

Behr, Carla Souza
B421e   Efeito de uma dieta enriquecida com castanha-do-brasil
(*Bertholletia excelsa*, L.) no estado nutricional relativo ao
selênio de idosos não institucionalizados / Carla Souza Behr. --
São Paulo, 2004.
99p.

Dissertação (mestrado) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas
da USP. Faculdade de Economia, Administração e Contabilidade da
USP. Faculdade de Saúde Pública da USP. Curso Interunidades em
Nutrição Humana Aplicada.

Orientador: Cozzolino, Silvia Maria Franciscato

1. Selênio : Avaliação nutricional : Ciência dos alimentos
2. Castanha-do-brasil : Ciência dos alimentos 3. Nutrição :
Influência no envelhecimento I. T. II. Cozzolino, Silvia
Maria Franciscato, orientador.

641.17 CDD

Carla Souza Behr

**Efeito de uma dieta enriquecida com castanha-do-brasil
(*Bertholletia excelsa*, L.) no estado nutricional relativo ao
selênio de idosos não institucionalizados**

**Comissão Julgadora
Dissertação para obtenção do grau de Mestre**

**Profa. Dra. Silvia M. Franciscato Cozzolino
Orientador/ Presidente**

**Prof. Dr. Wilson Jacob Filho
1º examinador**

**Profa. Dra. Fátima Marucci
2º examinador**

São Paulo, 25 de março de 2004.

Ao meu querido Adriano

AGRADECIMENTOS

À minha querida orientadora *Silvia Maria Franciscato Cozzolino*, a qual tenho grande admiração, pela atenção, incentivo e dedicação a este trabalho.

Aos *participantes da pesquisa*, que realizaram cada etapa com muito carinho e disponibilidade, possibilitando a realização deste estudo.

Aos funcionários da Fundação Julita, em especial *Ana, Isabel e Maria* pela disponibilidade e atenção.

Aos colegas de trabalho do Hospital Israelita Albert Einstein, em especial *Cristiane Tonato*.

À *Elizete Lopes* pelo apoio inicial a este estudo.

Aos professores *Bethzabeth Slater* e *Fernando Nóbrega* pelo apoio a esta pesquisa.

Aos colegas de laboratório de Nutrição e Minerais, *Simone Freire, Gabriella Chioccola, Adriana Gisele Silva*, em especial *Luz Merida Flores, Vanuska Lima da Silva, Cristiane Cominetti e Maritsa Carla de Bortoli*, por todas as colaborações prestadas, sejam na prática, teoria ou convivência.

A *Luiz Cláudio Silva* pelo profissionalismo e colaboração fundamental na elaboração da parte experimental deste trabalho.

Às secretárias do Departamento de Alimentos e Nutrição Experimental, *Ângela Oliveira, Isabel Alves e Mônica Perussi*, pelos serviços prestados com muita atenção e profissionalismo.

Aos secretários da Pós-graduação *Benedita Oliveira, Elaine Ychico e Jorge Lima*, pela atenção, apoio e serviços prestados durante todo o período deste trabalho.

Aos *colegas, professores e funcionários* do Departamento de Alimentos e Nutrição Experimental da Faculdade de Ciências Farmacêuticas pela amizade e agradável convívio.

Ao amigo *Rodrigo Majella* pelo auxílio nas traduções e amizade.

Às minhas amigas *Alessandra Collucci, Viviane Arid e Shirlei Silva* pela força e incentivo dados.

A minha família, meus pais *Regina e Tadeu* e meus irmãos *Cínthia e Cláudio*, pelo apoio, carinho e amizade em todas as etapas da minha vida.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO DA LITERATURA.....	3
2.1. Castanha-do-brasil.....	3
2.2. Selênio – Aspectos Gerais.....	4
2.2.1. Recomendações dietéticas.....	4
2.2.2. Fontes de selênio.....	5
2.2.3. Estudos do consumo de selênio no Brasil.....	7
2.2.4. Formas químicas.....	7
2.2.5. Absorção, biodisponibilidade e excreção.....	7
2.2.6. Métodos para determinação.....	10
2.2.7. Funções do selênio.....	11
2.2.8. Deficiência e excesso.....	15
2.2.9. Parâmetros de avaliação do estado nutricional relativo ao selênio.....	16
2.3. Crescimento populacional.....	17
2.4. Alterações no envelhecimento.....	19
3. OBJETIVOS.....	21
3.1. Objetivo geral.....	21
3.2. Objetivos específicos.....	21
4. CASUÍSTICA E MÉTODOS.....	22
4.1. Amostragem e Seleção.....	22
4.2. Critérios de exclusão.....	23
4.3. Protocolo Experimental.....	23
4.4. Avaliação Antropométrica.....	25
4.5. Avaliação do consumo Alimentar.....	25
4.6. Perfil social e de saúde	26

4.7. Determinação da Composição centesimal e de selênio na castanha- do-brasil.....	26
4.8. Coleta dos materiais biológicos e avaliação bioquímica.....	27
4.8.1. Sangue.....	27
4.8.2. Unhas.....	28
4.9. Espectrometria de absorção atômica por geração de hidretos acoplados a cela de quartzo (HGQTAAS).....	29
4.10. Determinação de selênio no plasma.....	31
4.11. Determinação de selênio no eritrócito.....	31
4.12. Determinação de selênio nas unhas.....	32
4.13. Controle da metodologia de análise de selênio.....	32
4.14. Curva de calibração para análise de selênio.....	33
4.15. Preparação das soluções de trabalho.....	34
4.15.1. Solução de borohidreto de sódio (NaBH_4)....	34
4.15.2. Solução de ácido clorídrico 1,2N (HCl).....	34
4.16. Análise estatística dos dados.....	34
4.16.1. Nutrientes da dieta.....	34
4.16.2. Indicadores Bioquímicos.....	36
4.16.3. Correlação entre as variáveis.....	37
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	38
5.1. Idade, peso, estatura, e IMC.....	38
5.2. Sexo.....	40
5.3. Atividade Física.....	41
5.4. Renda.....	42
5.5. Patologias/ Doenças atuais.....	44
5.6. Uso de bebida alcoólica.....	44
5.7. Tabagismo.....	44

5.8. Avaliação do Consumo Alimentar.....	45
5.8.1. Carboidratos.....	46
5.8.2. Lipídeos.....	49
5.8.3. Proteínas.....	52
5.8.4. Energia.....	55
5.8.5. Selênio.....	58
5.9. Análise da composição centesimal da castanha-do-brasil.....	62
5.10. indicadores Bioquímicos.....	63
5.10.1. Plasma.....	63
5.10.2. Eritrócito.....	68
5.10.3. Unhas.....	73
5.11. Correlação entre os resultados.....	78
6. CONCLUSÕES.....	80
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	82
8. ANEXOS.....	94

LISTA DE TABELAS:

Tabela 1 - Mudança na população de países que terão mais de 16 milhões de pessoas com 60 anos ou mais no ano de 2025.

Tabela 2 – Preparação da curva de calibração para análise de selênio.

Tabela 3 – Valores de peso (kg), estatura (cm), IMC ($\text{kg}/(\text{m})^2$) e classificação do estado nutricional (PERISSINOTTO, 2002) de indivíduos idosos (≤ 60 anos), não institucionalizados submetidos à avaliação nutricional relativa ao selênio, São Paulo, 2004.

Tabela 4 - Distribuição de energia, selênio e composição centesimal^a de proteína, lipídeos e carboidratos por meio do programa Virtual Nutri nas dietas de 36 (1^o inquérito) e 26 (2^o inquérito) idosos não institucionalizados, São Paulo, 2004.

Tabela 5 - Composição centesimal da castanha-do-brasil conforme determinação analítica (AOAC, 1980), São Paulo, 2004.

Tabela 6 – Resultados da concentração de selênio no plasma dos participantes antes e depois da suplementação com castanha-do-brasil.

Tabela 7 - Tabela demonstrativa de resultados obtidos para a concentração de selênio no plasma ($\mu\text{g}/\text{L}$) em grupos diferentes de participantes de alguns trabalhos realizados no mesmo laboratório da atual pesquisa.

Tabela 8 – Resultados da concentração de selênio no eritrócito dos participantes antes e depois da suplementação com castanha-do-brasil.

Tabela 9 - Tabela demonstrativa de resultados obtidos para a concentração de selênio no eritrócito ($\mu\text{g}/\text{L}$) em grupos diferentes de participantes de alguns trabalhos realizados no mesmo laboratório da atual pesquisa.

Tabela 10 – Resultados da concentração de selênio nas unhas dos participantes antes e depois da suplementação com castanha-do-brasil.

Tabela 11 - Tabela demonstrativa de resultados obtidos para a concentração de selênio nas unhas ($\mu\text{g/g}$) em grupos diferentes de participantes de alguns trabalhos realizados no mesmo laboratório da atual pesquisa.

Tabela 12 – Teste de regressão – correlação entre o nível de selênio no plasma antes da suplementação e variáveis de interesse.

LISTA DE FIGURAS:

Figura 1 - Fluxograma de atividades desenvolvidas durante a pesquisa.

Figura 2 – Distribuição dos valores de IMC (PERISSINOTTO, 2002), desnutrição ($\text{IMC} < 20$), eutrofia ($20 \leq \text{IMC} < 30$) e obesidade ($\text{IMC} \geq 30$) de indivíduos idosos (≥ 60 anos), não institucionalizados, São Paulo, 2004.

Figura 3 – Distribuição relativa ao sexo dos participantes da pesquisa (≥ 60 anos), não institucionalizados, submetidos à avaliação do estado nutricional relativo ao selênio, São Paulo, 2004.

Figura 4 – Distribuição dos participantes quanto à prática de atividade física entre 40 indivíduos idosos (≥ 60 anos), não institucionalizados, submetidos à avaliação do estado nutricional relativo ao selênio, São Paulo, 2004.

Figura 5 – Distribuição da renda (%), de 36 idosos (≥ 60 anos), não institucionalizados, submetidos à avaliação do estado nutricional relativo ao selênio, São Paulo, 2004.

Figura 6 – Fonte de renda (%), de 36 idosos (≥ 60 anos), não institucionalizados, submetidos à avaliação do estado nutricional relativo ao selênio, São Paulo, 2004.

Figura 7 - Demonstração do consumo diário de carboidratos (%), antes da suplementação com castanha-do-brasil, conforme análise pelo programa Virtual Nutri, de 26 idosos (≥ 60 anos), não institucionalizados, submetidos à avaliação do estado nutricional relativo ao selênio, São Paulo, 2004.

Figura 8 – Demonstração do consumo diário de carboidratos (%) após suplementação com castanha-do-brasil, conforme análise pelo programa Virtual Nutri, de 26 idosos (≥ 60 anos), não institucionalizados, submetidos à avaliação do estado nutricional relativo ao selênio, São Paulo, 2004.

Figura 9 – Composição centesimal (%) de carboidratos, antes da suplementação com castanha-do-brasil, pela análise do programa Virtual Nutri das dietas de 26 idosos (≥ 60 anos), não institucionalizados, submetidos à avaliação do estado nutricional relativo ao selênio, São Paulo, 2004.

Figura 10 – Composição centesimal (%) de carboidratos, pela análise do programa Virtual Nutri das dietas de 26 idosos (≥ 60 anos) após suplementação com castanha-do-brasil, não institucionalizados, submetidos à avaliação do estado nutricional relativo ao selênio, São Paulo, 2004.

Figura 11 – Demonstração do consumo diário de lipídeos (%), antes da suplementação com castanha-do-brasil, conforme análise pelo programa Virtual Nutri, de 26 idosos (≥ 60 anos), não institucionalizados, submetidos à avaliação do estado nutricional relativo ao selênio, São Paulo, 2004.

Figura 12 – Demonstração do consumo diário de lipídeos (%) após suplementação com castanha-do-brasil, conforme análise pelo programa Virtual Nutri, de 26 idosos (≥ 60 anos), não institucionalizados, submetidos à avaliação do estado nutricional relativo ao selênio, São Paulo, 2004.

Figura 13 – Composição centesimal (%) de lipídeos, antes da suplementação com castanha-do-brasil, pela análise do programa Virtual Nutri das dietas de 26 idosos (≥ 60 anos), não institucionalizados, submetidos à avaliação do estado nutricional relativo ao selênio, São Paulo, 2004.

Figura 14 – Composição centesimal (%) de lipídeos, pela análise do programa Virtual Nutri das dietas de 26 idosos (≥ 60 anos) após suplementação com castanha-do-brasil, não institucionalizados, submetidos à avaliação do estado nutricional relativo ao selênio, São Paulo, 2004.

Figura 15 – Demonstração do consumo diário de proteínas (%), antes da suplementação com castanha-do-brasil, conforme análise pelo programa Virtual Nutri, de 26 idosos (≥ 60 anos), não institucionalizados, submetidos à avaliação do estado nutricional relativo ao selênio, São Paulo, 2004.

Figura 16 – Demonstração do consumo diário de proteínas (%) após suplementação com castanha-do-brasil, conforme análise pelo programa Virtual Nutri, de 26 idosos (≥ 60 anos), não institucionalizados, submetidos à avaliação do estado nutricional relativo ao selênio, São Paulo, 2004.

Figura 17 – Composição centesimal (%) de proteínas, antes da suplementação com castanha-do-brasil, pela análise do programa Virtual Nutri das dietas de 26 idosos (≥ 60 anos), não institucionalizados,

submetidos à avaliação do estado nutricional relativo ao selênio, São Paulo, 2004.

Figura 18 – Composição centesimal (%) de proteínas, pela análise do programa Virtual Nutri das dietas de 26 idosos (≥ 60 anos) após suplementação com castanha-do-brasil, não institucionalizados, submetidos à avaliação do estado nutricional relativo ao selênio, São Paulo, 2004.

Figura 19 – Demonstração do consumo diário de energia (kcal), antes da suplementação com castanha-do-brasil, conforme análise pelo programa Virtual Nutri, de 26 idosos (≥ 60 anos), não institucionalizados, submetidos à avaliação do estado nutricional relativo ao selênio, São Paulo, 2004.

Figura 20 – Demonstração do consumo diário de energia (kcal) após suplementação com castanha-do-brasil, conforme análise pelo programa Virtual Nutri, de 26 idosos (≥ 60 anos), não institucionalizados, submetidos à avaliação do estado nutricional relativo ao selênio, São Paulo, 2004.

Figura 21 – Distribuição de energia (kcal), antes da suplementação com castanha-do-brasil, pela análise do programa Virtual Nutri das dietas de 26 idosos (≥ 60 anos), não institucionalizados, submetidos à avaliação do estado nutricional relativo ao selênio, São Paulo, 2004.

Figura 22 – Distribuição de energia (kcal), pela análise do programa Virtual Nutri das dietas de 26 idosos (≥ 60 anos) não institucionalizados após suplementação com castanha-do-brasil, submetidos à avaliação do estado nutricional relativo ao selênio, São Paulo, 2004.

Figura 23 – Demonstração do consumo diário de Selênio ($\mu\text{g}/\text{dia}$), antes da suplementação com castanha-do-brasil, conforme análise pelo programa

Virtual Nutri, de 26 idosos (≥ 60 anos), não institucionalizados, submetidos à avaliação do estado nutricional relativo ao selênio, São Paulo, 2004.

Figura 24 – Demonstração do consumo diário de Selênio ($\mu\text{g}/\text{dia}$) após suplementação com castanha-do-brasil, conforme análise pelo programa Virtual Nutri, de 26 idosos (≥ 60 anos), não institucionalizados, submetidos à avaliação do estado nutricional relativo ao selênio, São Paulo, 2004.

Figura 25 – Distribuição de Selênio ($\mu\text{g}/\text{dia}$), antes da suplementação com castanha-do-brasil, pela análise do programa Virtual Nutri das dietas de 26 idosos (≥ 60 anos), não institucionalizados, submetidos à avaliação do estado nutricional relativo ao selênio, São Paulo, 2004.

Figura 26 – Distribuição de Selênio ($\mu\text{g}/\text{dia}$), pela análise do programa Virtual Nutri das dietas de 26 idosos (≥ 60 anos) não institucionalizados após suplementação com castanha-do-brasil, submetidos à avaliação do estado nutricional relativo ao selênio, São Paulo, 2004.

Figura 27 – Demonstração da concentração de selênio no plasma de 31 idosos (≥ 60 anos), antes da suplementação com castanha-do-brasil, não institucionalizados submetidos à avaliação do estado nutricional relativo ao selênio, São Paulo, 2004.

Figura 28 – Demonstração da concentração de selênio no plasma de 31 idosos (≥ 60 anos), depois da suplementação com castanha-do-brasil, não institucionalizados submetidos à avaliação do estado nutricional relativo ao selênio, São Paulo, 2004.

Figura 29 – Distribuição da concentração de selênio no plasma de 31 idosos (≥ 60 anos), antes da suplementação com castanha-do-brasil, não

institucionalizados submetidos à avaliação do estado nutricional relativo ao selênio, São Paulo, 2004.

Figura 30 – Distribuição da concentração de selênio no plasma de 31 idosos (≥ 60 anos), depois da suplementação com castanha-do-brasil, não institucionalizados submetidos à avaliação do estado nutricional relativo ao selênio, São Paulo, 2004.

Figura 31 – Demonstração da concentração de selênio no eritrócito de 30 idosos (≥ 60 anos), antes da suplementação com castanha-do-brasil, não institucionalizados submetidos à avaliação do estado nutricional relativo ao selênio, São Paulo, 2004.

Figura 32 – Demonstração da concentração de selênio no eritrócito de 30 idosos (≥ 60 anos), depois da suplementação com castanha-do-brasil, não institucionalizados submetidos à avaliação do estado nutricional relativo ao selênio, São Paulo, 2004.

Figura 33 – Distribuição da concentração de selênio no eritrócito de 30 idosos (≥ 60 anos), antes da suplementação com castanha-do-brasil, não institucionalizados submetidos à avaliação do estado nutricional relativo ao selênio, São Paulo, 2004.

Figura 34 – Distribuição da concentração de selênio no eritrócito de 30 idosos (≥ 60 anos), depois da suplementação com castanha-do-brasil, não institucionalizados submetidos à avaliação do estado nutricional relativo ao selênio, São Paulo, 2004.

Figura 35 – Demonstração da concentração de selênio nas unhas de 30 idosos (≥ 60 anos), antes da suplementação com castanha-do-brasil, não institucionalizados submetidos à avaliação do estado nutricional relativo ao selênio, São Paulo, 2004.

Figura 36 – Demonstração da concentração de selênio nas unhas de 30 idosos (≥ 60 anos), depois da suplementação com castanha-do-brasil, não institucionalizados submetidos à avaliação do estado nutricional relativo ao selênio, São Paulo, 2004.

Figura 37 – Distribuição da concentração de selênio nas unhas, antes da suplementação com castanha-do-brasil, de 30 idosos (≥ 60 anos), não institucionalizados submetidos à avaliação do estado nutricional relativo ao selênio, São Paulo, 2004.

Figura 38 – Distribuição da concentração de selênio nas unhas, depois da suplementação com castanha-do-brasil, de 30 idosos (≥ 60 anos), não institucionalizados submetidos à avaliação do estado nutricional relativo ao selênio, São Paulo, 2004.

RESUMO

Behr, C. S., Efeito de uma dieta enriquecida com castanha-do-brasil (*Bertholletia excelsa*, L.) no estado nutricional relativo ao selênio de idosos não institucionalizados; 2004. [Dissertação de mestrado – FCF-FEA-FSP/USP]

O selênio é um elemento essencial à saúde humana, cuja distribuição heterogênea na natureza, favorece o aparecimento tanto da deficiência como da toxicidade. O objetivo deste estudo foi avaliar o estado nutricional relativo ao selênio de indivíduos idosos não institucionalizados antes e após a suplementação com castanha - do - brasil. Foram avaliados 40 indivíduos com idade ≥ 60 anos, que satisfizeram os critérios de inclusão, ou seja, não eram usuários de suplementos vitamínicos-minerais e não apresentavam qualquer patologia que pudesse vir comprometer o estudo, como câncer, diabetes ou artrite reumatóide. Foram avaliados o consumo alimentar, os dados antropométricos e a concentração de selênio no sangue e unhas desta população antes e depois de uma suplementação de três meses com castanha-do-brasil. A avaliação do consumo alimentar foi feita através de registro alimentar por 3 dias e análise pelo software VirtualNutri. O selênio foi determinado por espectrometria de absorção atômica por geração de hidretos acoplados a cela de quartzo (HGQTAAS). Os resultados indicaram 38% e 0% de inadequação na ingestão de selênio em relação a EAR (Necessidade Média Estimada) antes e depois da suplementação respectivamente. A maioria do grupo apresentou antropometria normal. Verificou-se após a suplementação com castanha-do-brasil que o nível médio da concentração de selênio no plasma e eritrócito foi 49% e 229% maior respectivamente ($p < 0,05$). Nas unhas foi aceita a hipótese de que os valores antes e depois da suplementação foram estatisticamente iguais.

ABSTRACT

Behr, C. S., Effect of a diet providing with brazil nut (*Bertholletia excelsa*, L.) in the selenium nutritional status in noninstitutionalized elders; 2004.

Selenium is an essential element to human health. Its irregular distribution in nature favors the emergence of both deficiency and toxicity, though. The goal of this research was to evaluate the selenium nutritional status in non-institutionalized elders before and after the providing of brazil nut supplementation. We studied 40 individuals aged ≥ 60 years-old who fulfilled the inclusion requirements, i.e., did not make use of vitaminic-mineral supplements and did not suffer from any pathologies able to interfere in the outcome of the study, such as cancer, diabetes or rheumatoid arthritis. We examined their diet, anthropometric data and selenium rates in blood and nails prior and subsequent to a three-month period of brazil nut supplementation. Diet evaluation was performed by taking alimentary notes during 3 days and by analyzing the data with VirtualNutri software. The ratio of selenium was measured using spectrometrics of atomic absorption by generation of hydrates linked to a quartz cell (HGQTAAS). Our results indicated 38% and 0% of inadequacy in selenium ingestion in reference to the EAR (Estimated Average Reference) before and after supplementation, respectively. Most of the group presented normal anthropometrical values. It was found that, following the administration of brazil nut, the average selenium rates in plasma and erythrocytes increased 49% and 229% respectively ($p < 0,05$). Concerning the nails, we accepted the hypothesis of statistically equal levels preceding and succeeding treatment.

1. INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, os estudos sobre os processos de envelhecimento da população brasileira têm recebido maior destaque em diversas áreas do conhecimento científico. No entanto, ainda são incipientes quanto às questões relacionadas à alimentação e nutrição. A explosão demográfica da população idosa no Brasil é um fato, e tem apresentado uma das maiores taxas de crescimento populacional (VERAS, 1995; IBGE, 1994).

A Organização Mundial da saúde (WHO, 1995) ressalta a alimentação como um fator relevante de estudo para o segmento da Terceira Idade, visto que a investigação sobre o consumo alimentar destes indivíduos ainda não atingiu o nível desejado enquanto indicador direto da condição nutricional.

No Brasil, estudos com a população idosa têm demonstrado inadequação de consumo alimentar, com preocupação particular para os micronutrientes (CORDEIRO, 1994; NAJAS, 1994). Dentre os minerais, destaca-se o selênio, devido sua ação antioxidante e sua inter-relação com as doenças crônicas não transmissíveis de interesse nutricional (KWITEROWICH JR, 1997; FOSTER & SUMAR, 1997, WOOD, 1995).

Várias funções fisiológicas estão sendo atribuídas ao selênio, como a redução de peróxidos orgânicos e inorgânicos formados nas reações dos radicais livres, no meio intra e extracelular; ação anticancerígena; potencialização do sistema imunológico; participação da conversão do T4 para o T3; detoxificação do organismo contra metais pesados e xenobióticos, além de atuar favorecendo a síntese da metionina a partir da homocisteína, diminuindo o risco para doenças cardiovasculares (MUNTAU, 2002; DAVIS e UTHUS, 2002; ROMERO, 2001; ORTUNO, 1997).

Estudos realizados em algumas regiões brasileiras, têm evidenciado uma baixa ingestão alimentar de Se, ocasionando um inadequado estado nutricional dos indivíduos relativo a esse mineral. Pesquisas realizadas no Laboratório de Nutrição-Minerais da Faculdade de Ciências Farmacêuticas

da Universidade de São Paulo, evidenciaram a ocorrência de uma baixa ingestão de Se e de concentrações insatisfatórias de Se no organismo, de indivíduos residentes em São Paulo e em outras regiões do Brasil (COUTINHO, 1999; MEDEIROS, 1997; BOAVENTURA, 1994; CINTRA E COZZOLINO, 1993).

Levando em consideração o binômio, grupo populacional da Terceira Idade e a baixa ingestão de selênio pela população, foi proposto o presente estudo, com o objetivo de pesquisar o estado nutricional relativo ao selênio e avaliar o efeito de uma intervenção nutricional oferecida por meio da suplementação com castanha-do-brasil, visto que é o alimento considerado como uma das melhores fontes desse mineral na alimentação humana.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1. Castanha-do-brasil

A castanheira é uma árvore da espécie vegetal identificada como *Bertholletia excelsa*, H. B. K., que ocorre predominantemente em solo argiloso ou argilo-silicoso, em regiões de clima quente e úmido. Esta espécie é encontrada na região amazônica (Brasil, Venezuela e Colômbia) e pode atingir até 60 metros de altura e diâmetro superior a 2 metros. Estas árvores podem apresentar uma idade estimada em mais de oitocentos anos e continuar dando frutos (NEVES, 1938).

O fruto é conhecido como ouriço, possui forma esférica e grande variação no tamanho e peso, que pode ser de 200 g a 1,5 kg. A casca do fruto é muito dura e em seu interior estão contidas as sementes, que representam cerca de 25% do peso do fruto. Em média, cada ouriço pesa 700 g e contém cerca de 18 sementes. As sementes são denominadas castanha-do-brasil, castanha-do-pará ou castanha-da-amazônia. Neste estudo iremos utilizar a nomenclatura de castanha-do-brasil por convenção.

O produto comercializado para consumo, a amêndoa, normalmente é descascada, e vendida com ou sem película, sendo parcialmente desidratada por um prolongado período de aquecimento a 50-55°C. As amêndoas possuem uma alta concentração lipídica, principalmente em ácidos graxos poliinsaturados. A proporção de ácidos graxos poliinsaturados, encontrados na castanha-do-brasil é relatada de 49,9% de ácido linoléico e 27,2% de ácido oléico (MELO, 1989).

A castanha-do-brasil apresenta também a maior quantidade de selênio pôr parte comestível em relação aos outros alimentos conhecidos (FOX e FAIRWEATHER-T, 1999; REILLY, 1996), possuindo o título de melhor alimento fonte deste importante mineral.

Além disso ainda contém sais minerais (3,5 a 4,5%), vitamina B1 (tiamina, 1.10mg/100g) e B2 (riboflavina, 0.25mg/ 100g), bário 10.2mg/100g e excelente qualidade protéica, contendo aminoácidos como: treonina, triptofano, valina, fenilalanina, tirosina e principalmente leucina, metionina e cistina (MELO, 1989).

A presença de bário, e dos radionuclídios naturais rádio, urânio, chumbo e tálio foi mencionada por HIROMOTO, et al., 1996. Este autor recomenda uma ingestão máxima semanal de 100g de parte comestível da castanha-do-pará por pessoa, com o fim de evitar risco do acúmulo de substâncias radiativas.

2.2. Selênio – Aspectos Gerais

2.2.1. Recomendações dietéticas

As DRI's (Ingestão Dietética de Referência) são valores de referência de ingestão de nutrientes que devem ser utilizados para planejar e avaliar dietas para pessoas saudáveis. Elas incluem tanto as recomendações de ingestão como os limites superiores que devem ser considerados como valores de referência. (ESTADOS UNIDOS-NRC, 2001)

Estudos de intervenção realizados na China e Nova Zelândia serviram de base para a determinação da estimativa média de ingestão (EAR) para Se de 45µg (0,57µmol) por dia para homens e mulheres adultos. A EAR estima o valor de ingestão de um determinado nutriente que assegure a necessidade nutricional relativa ao nutriente de cerca de 50% dos indivíduos de uma população (DRI, 2000).

A RDA (Ingestão Dietética Recomendada) para Se, foi estabelecida a partir do valor estipulado para EAR somado a duas vezes o coeficiente de variação que é de 10% (DRI, 2000).

$$\text{RDA} = \text{EAR} (45 \mu\text{g}) + [2 (\text{CV} (10\%))]$$

Atualmente a recomendação dietética para Se, segundo a DRI, é de 55µg (0,7 µmol) ao dia para adultos do sexo feminino e masculino. Acredita-se que esta quantidade proporciona uma atividade ótima da principal enzima selenodependente, a glutathione peroxidase, como avaliado pelo platô da atividade da isoforma desta enzima no plasma (DRI, 2000). Para indivíduos idosos é utilizado este mesmo valor pois não se têm informações específicas sobre as necessidades de Se desses últimos.

TRIPP (1997) relata que alguns autores têm recomendado a utilização de complexos multivitamínicos-minerais como um caminho razoável para assegurar uma ingestão adequada deste nutriente para idosos. Os cientistas, atualmente, estão mais interessados na quantidade dos nutrientes necessários para prevenir doenças crônicas não transmissíveis do que para prevenir deficiências, e isto irá provavelmente influenciar o estabelecimento das recomendações dietéticas futuras (RUSSEL, 1997).

2.2.2. Fontes de Selênio

O homem obtém selênio através dos alimentos, dos suplementos, da água e do ar. Porém a principal fonte de selênio recebida pelo homem é provinda dos alimentos (FÁVARO, et al., 1997; BASKETT, et al., 1995). Os alimentos apresentam uma grande variabilidade da concentração de selênio devido aos diferentes teores no solo e da fitodisponibilidade das plantas, por isso é importante averiguar onde o alimento foi produzido ou cultivado. A região de São Paulo é considerada uma região com solos pobres em selênio, o que leva a população desta região a ter uma ingestão diária média nas dietas de cerca de 18-40 µg/dia (GONZAGA, 2002; CINTRA, 1990; FAVARO, 1997).

Um exemplo desta variabilidade foi demonstrado em um estudo que analisou o mesmo tipo de alimento em diferentes regiões, como por exemplo: a carne na Inglaterra tem 0.12 $\mu\text{g/g}$, na França 0.08 $\mu\text{g/g}$ e nos Estados Unidos tem 0.22 $\mu\text{g/g}$ (WYATT et al., 1996).

O milho, arroz e soja cultivados na China, quando provenientes de áreas com ocorrência de selenose, apresentam quantidades médias de 8.1; 4.0 e 11.9 $\mu\text{g/g}$ respectivamente. No entanto, os mesmos alimentos quando cultivados em área com deficiência de selênio, onde há prevalência da doença de Keshan apresentaram concentrações de Se de 0.005; 0.007 e 0.010 $\mu\text{g/g}$ (LEVANDER, 1987).

As melhores fontes alimentares de Se são as carnes, principalmente miúdos e peixes, ovos, alho, cogumelo, feijão, trigo e subprodutos como pão e farinha de trigo. A castanha-do-brasil é uma das melhores fontes alimentares de Se, ela apresenta uma grande variabilidade quanto à concentração desse mineral, de 15.3 a 29.6 $\mu\text{g/g}$ (FAIRWEATHER-TAIT, 1997), podendo chegar até 40 $\mu\text{g/g}$ (GONZAGA, 2002).

Outro aspecto importante é a concentração protéica do alimento, pois os alimentos protéicos incorporam melhor o Se, principalmente os que possuem uma melhor concentração de aminoácidos que contenham enxofre (metionina e cisteína). A combinação da metionina com o Se forma a selenometionina em alimentos de origem vegetal e a combinação de cisteína com o Se forma a selenocisteína principalmente em alimentos de origem animal.

A selenometionina é predominante nos cereais e leguminosas. As frutas cítricas e vegetais folhosos por possuírem baixas concentrações protéicas, possuem menor teor de Se. Já os alimentos cárneos, o leite e seus derivados e os alimentos marinhos, possuem maior concentração de selenocisteína (BURK, 1998).

2.2.3. Estudos do consumo de Se no Brasil

No Brasil, estudos de dietas regionais normalmente consumidas por populações de baixa renda nos estados de Mato Grosso e de São Paulo, demonstraram uma ingestão diária de selênio ao redor de 20 e 40 μg respectivamente. Em Manaus (AM), a ingestão média foi de 98 μg ao dia e em Santa Catarina foi de 55,3 a 114,5 μg ao dia (COZZOLINO, 1997; BOAVENTURA & COZZOLINO, 1993; CINTRA & COZZOLINO, 1993).

2.2.4. Formas químicas

O selênio está presente na crosta terrestre e possui uma distribuição na natureza heterogênea de acordo com o registro de alguns autores (WHO, 1996; WHO, 1993).

Além da quantidade de selênio no solo é importante considerar as características físico-químicas do solo, que influenciam na biodisponibilidade do selênio para plantas e animais. Na natureza, o selênio encontra-se nos estados de oxidação 0, +2, +4 e +6. Em geral nos solos ácidos, o selênio está como selênio elementar (0), selenido (+2) e selenito (+4), e também ligados em óxidos de alumínio e prata formando compostos menos solúveis e assimiláveis, enquanto que em terras alcalinas tem mais selenato (+6) que é mais solúvel e assimilável pelas plantas e pelos animais. (FOX e FAIRWEATHER-T, 1999; ORTUÑO, et al., 1997; WHO, 1996).

2.2.5. Absorção, biodisponibilidade e excreção

Com relação à forma de ingestão, minerais e elementos-traço freqüentemente são absorvidos mais vagarosamente quando fazem parte da dieta do que quando ingeridos isoladamente ou quando presentes na água de beber. Nutrientes como suplementos que são ingeridos separadamente

dos alimentos necessitam consideração especial, desde que aparentemente possuem diferente biodisponibilidade e podem representar um grande risco de efeito adverso. (ESTADOS UNIDOS-NRC, 2001).

Compostos de selênio são geralmente muito bem absorvidos pelo ser humano e a absorção não parece estar sob controle homeostático (FOX E FAIRWEATHER-T, 1999). Os nutrientes que facilitam a absorção de Se são: presença de proteínas (metionina e cisteína), vit E, A e C em altas doses, e também outros antioxidantes. Os fatores que inibem sua absorção são: altas doses de enxofre e metais pesados (FAIRWEATHER, 1997).

A forma inorgânica do Se, o selenato, é absorvida quase completamente, mas uma significativa fração é perdida na urina antes que esta possa ser incorporada nos tecidos. Outra forma inorgânica, o selenito, tem uma absorção mais variável, provavelmente relacionada com interações com substâncias no lúmen intestinal, mas é melhor retido, uma vez absorvido, do que o selenato. A absorção do selenito é geralmente maior do que 50%. Embora o selenato e selenito não sejam os principais constituintes dietéticos, eles são comumente utilizados na fortificação de alimentos, como também em suplementos de selênio (ESTADOS UNIDOS-NRC, 2001).

O armazenamento de selênio tem dois "pools". O primeiro é o Se estocado na forma de selenometionina principalmente nos músculos, eritrócitos, pâncreas, fígado, rins, estômago, cérebro, pele e mucosa gastrointestinal. Esta reserva depende da ingestão de Se na forma de selenometionina, e está disponível para ser metabolizada primeiramente de acordo com o "turnover" protéico da metionina, e independe da necessidade do organismo para o selênio. O segundo "pool" é o estoque de selênio no fígado na forma de glutathiona peroxidase (GSHPx-1). Quando a dieta torna-se deficiente em Se e limita a síntese de outras selenoproteínas, este pool fica sob regulação, reduzindo a concentração de mRNA e consequentemente a síntese da glutathiona peroxidase (NCR, 2000; SUNDE, 1997).

Biodisponibilidade de um nutriente ingerido pode ser definida como sua acessibilidade aos processos metabólicos e fisiológicos normais. A biodisponibilidade influencia o efeito benéfico de um nutriente em níveis fisiológicos de ingestão e também pode afetar a natureza e gravidade da toxicidade devido à ingestão excessiva. Fatores que afetam a biodisponibilidade incluem a concentração e forma química do nutriente, a forma de ingestão, o estado nutricional e de saúde do indivíduo e as perdas por excreção. (COZZOLINO, 1997).

Alguns fatores influenciam a biodisponibilidade de selênio, como a quantidade de Se ingerida na dieta; origem alimentar do Se consumido; interação com outros componentes da dieta; eficiência de digestão; formação de compostos absorvíveis de Se; tempo de trânsito intestinal; estado nutricional do organismo em relação ao selênio; doenças do trato gastrointestinal; conversão para formas biologicamente ativas após absorção, sua incorporação à enzima glutathione peroxidase (ESTADOS UNIDOS, 2001; ORTUÑO et al., 1997; FAIRWEATHER –T, 1997; REILLY, 1996).

O mecanismo de excreção do Se não foi completamente elucidado. O que se sabe até hoje é que os metabólitos excretados são uma forma do organismo manter a homeostase do selênio corporal.

Alguns estudos demonstraram que a urina é a principal via de excreção do mesmo, na forma de trimetilselenônio, selenito e selenato. A urina, é utilizada desde 1930, para avaliar toxicidade relativa a selênio e reflete o estado atual de ingestão diária do nutriente. Em áreas de ingestão excessiva de Se, porém, com ausência de sinais clínicos, a excreção urinária é de $0,14 \mu\text{g mL}^{-1}$. Em áreas onde o consumo de selênio é normal, a excreção urinária é de $0,026 \mu\text{g mL}^{-1}$ (YANG, 1983).

Pela respiração são eliminadas formas voláteis como monometil e dimetilselenido, este último é responsável pelo cheiro característico de alho na respiração quando a selenometionina está sendo eliminada. O selênio

incorporado no cabelo e unhas, também é perdido pelo organismo humano. Estes são considerados como indicadores a longo prazo do estado nutricional do indivíduo em relação ao selênio. São muito utilizados para avaliar o alto consumo de Se, por serem tecidos queratinizados que acumulam Se, além do aspecto importante de serem métodos não invasivos (FOX e FAIRWEATHER-T, 1999). Porém, vale ressaltar que as unhas e cabelos são passíveis de sofrerem contaminações do meio ambiente, podendo apresentar resultados não verdadeiros.

2.2.6. Métodos para determinação

Técnicas de análise de Selênio propostas por REILLY (1996):

- Métodos gravimétricos de análises: usados principalmente em amostras com altas concentrações de selênio, e baseados na precipitação do selênio.
- Técnicas instrumentais: dentre as técnicas instrumentais mais evidentes, destacam-se:
  - Fluorimetria: a literatura indica que a fluorimetria é o método para determinação de selênio em materiais biológicos mais amplamente utilizado. O método baseia-se na reação do ácido selenoso com diaminos (2,3-diaminonaftaleno – DAN) para formar o piasselenol, o qual é fluorescente. O piasselenol é extraído de uma solução ácida com um solvente (ciclohexano);
  - Análise por ativação com nêutrons: as amostras são irradiadas com nêutrons produzindo isótopos radioativos que são distinguidos dos não radioativos por medidas em espectrômetros de raios gama. Apresenta grande sensibilidade e exatidão para elementos nutricionais e toxicológicos.

- Espectrometria de absorção atômica por forno de grafite ou espectrometria de absorção atômica eletrotérmica: o calor elétrico num tubo de grafite ou plataforma é usado por atomização. Algumas determinações de selênio, em amostras biológicas, apresentam resultados conflitantes, devido ao método ser propenso a interferências de matrizes, particularmente de fosfatos. Perdas significantes por volatilização podem ocorrer durante a atomização, a menos que sejam feitas algumas modificações na matriz.
- Espectrometria de absorção atômica por geração de hidretos: o selênio, bem como o arsênico e outros elementos, por possuírem hidretos voláteis podem ser detectados por esta técnica. Envolve a introdução do hidreto numa chama ou tubo de grafite aquecido eletrotermicamente, através do qual a luz de uma lâmpada de catodo-ôco reflete. A técnica apresenta mínimas interferências de matrizes.

2.2.7. Funções do selênio

Várias ações têm sido atribuídas ao selênio, como:

1. Redução dos peróxidos orgânicos e inorgânicos formados nas reações dos radicais livres no meio intra e extracelular;

Esta função está relacionada às glutathionas peroxidases que são enzimas dependentes de selênio, entre as quais, atualmente são conhecidas quatro (HOLBEN e SMITH, 1999).

A primeira, a glutathione peroxidase citosólica (ROTRUCK, et al., 1973), é encontrada em todas as células com função de catalisar ou reduzir uma ampla quantidade de peróxido de hidrogênio e hidroperóxidos orgânicos livres, transformando-os, respectivamente, em água e álcool, inclusive aqueles oriundos de cadeias de ácidos graxos, do metabolismo das fosfolipases. A glutathione peroxidase citosólica também serve como reserva

corporal de Se, podendo ser usada para as necessidades imediatas de selênio (FOX e FAIRWEATHER-T, 1999; HOLBEN e SMITH, 1999; KÖHRLE, 1999; FLOHÉ, 1999).

A glutathione peroxidase fosfolipídio hidroperóxido tem a função de neutralizar a ação de oxidação provocada na membrana da célula pelos hidroperóxidos de ácidos graxos, que são reduzidos e esterificados até fosfolipídios. É também atribuída a ela a redução dos hidroperóxidos de colesterol e éster de colesterol, nas membranas e nas proteínas de baixa densidade (LDL), assim como o bloqueio da peroxidação lipídica no metabolismo dos eicosanóides. Por isso, o Se é considerado preventivo para a aterogênese (FLOHÉ, 1999; FOX e FAIRWEATHER-T, 1999; HOLBEN e SMITH, 1999).

A glutathione peroxidase do plasma ou glutathione extracelular, identificada em 1986 por TAKAHASHI e COHEN, parece ser sintetizada primariamente nas células tubulares renais. Sua função é servir de barreira antioxidante para o sangue filtrado, e, proteger as células endoteliais do dano oxidativo provocado pelos radicais livres, na forma de peróxidos, sendo, também, a única glutathione peroxidase presente no leite materno (HOLBEN e SMITH, 1999; FLOHÉ, 1999).

A glutathione peroxidase intestinal em humanos, encontrada no trato gastrointestinal e fígado, tem sido sugerida como a principal glutathione na proteção contra os hidroperóxidos em passagem pelo trato gastrointestinal. Também reage com os peróxidos resultantes de subprodutos do metabolismo digestivo dos alimentos e xenobióticos no fígado. Em ambas as funções, essa glutathione exibe um potencial anti-mutagênico dos hidroperóxidos, e, pode, portanto, proteger o trato gastrointestinal e evitar o desenvolvimento de processos malignos (FLOHÉ, 1999; HOLBEN e SMITH, 1999).

2. Ação anticancerígena;

Vários mecanismos estão sendo propostos para explicar a ação do selênio no aparecimento de câncer. Os de maior consenso, são:

- redução da hipermetilação do DNA, causada pelo aumento da DNA metiltransferase, processo este que prejudica a transcrição do DNA (DAVIS e UTHUS, 2002);
- regulação da hipometilação do DNA, que paradoxalmente ocorre durante a progressão do tumor (DAVIS e UTHUS, 2002);
- proteção antioxidante, que promove um equilíbrio entre a formação de radicais livres e o funcionamento celular normal. Quando este equilíbrio é interrompido pelo acúmulo de radicais livres, a célula entra em estresse oxidativo e, conseqüentemente, em instabilidade genética, alterando certos fatores de transcrição, ou oxidando o DNA na sua base 8-hidróxidesoxiguanosina (8-OHdG). Estudos experimentais demonstraram que o selênio reduz a excreção de 8-OHdG, um marcador biológico da taxa de oxidação do DNA (BAYOMY-EL, 2001).

Os estudos epidemiológicos correlacionam positivamente maior ingestão de selênio e menor incidência para câncer da tireóide, pele, mama, ovário, próstata e, trato gastrointestinal, especialmente o colo-retal (DAVIS e UTHUS, 2002; ORTUÑO et al., 1997; ALARCÓN-NAVARRO e MARTINEZ, 2000; KÖHRLE, 1999).

3. Potencialização do sistema imune;

Algumas propriedades das células fagocitárias, tais como, quimiotaxia, migração, ingestão e atividade fungicida, são indicadores claramente dependentes da concentração de Se no fagócito (ORTUÑO, et al., 1997). Alguns dos efeitos desse elemento como regulador do sistema

imunitário têm sido explicados pela manutenção da integridade das membranas das células imunocompetentes.

4. Participação na conversão do T₄ para o T₃;

As desiodinases tipo 1, 2 e 3 são selenoproteínas envolvidas no processo de crescimento e desenvolvimento humanos.

A deficiência em Se no organismo, causa um decréscimo de 15 a 20% em T₃. A tipo 1-iodotironina 5-desiodinase é uma selenoproteína, encontrada principalmente no fígado e nos rins, responsável pela conversão da forma inativa do pró-hormônio tiroxina (T₄) secretado pela tireóide, para a forma metabolicamente ativa 3,3-5 triiodotironina (T₃). Nos casos de deficiência de Se, o T₄ está aumentado no plasma, enquanto o T₃ está diminuído (HOLBEN e SMITH, 1999; KÖHRLE, 1999).

5. Detoxificação do organismo contra metais pesados e xenobióticos;

Estudos realizados no homem e em animais concluíram que o Se interage com um amplo número de elementos tóxicos, entre os quais, arsênico, cádmio, mercúrio, cobre, prata, chumbo e platina, podendo modificar a toxicidade em diferentes níveis e prevenir possíveis manifestações toxicológicas, devido à exposição a esses metais.

Diferentes hipóteses têm sido propostas para explicar essa interação. Primeiro, seria no interior do trato gastrointestinal, uma reação direta com o Se na forma inorgânica, com o metal, dando lugar à formação de substâncias biologicamente inativas. Este mecanismo foi encontrado para os estudos específicos do cádmio, platina, chumbo, prata e mercúrio. Na segunda hipótese, o Se reage com os grupos tióis de algumas moléculas para formar selenosulfidos, que têm forte afinidade por metais, mecanismo também encontrado para o cádmio. O selenito é apontado como protetor do dano testicular induzido pelo cádmio, por desviar a ligação do Cd com

proteínas de baixo peso molecular nesse tecido (ALARCÓN-NAVARRO e MARTINEZ, 2000; ORTUÑO, et al., 1997; REILLY, 1996).

Quanto aos xenobióticos, neles a deficiência de Se exacerba a toxicidade de alguns deles, como por exemplo, drogas, inseticidas, e hidrocarburetos halogenados (ORTUÑO, et al, 1997). Estudos experimentais com animais demonstraram que o selenito, por um mecanismo de redução da formação de ligações covalentes do DNA do fígado, protege este órgão da ação nociva das aflatoxinas.

6. Favorecimento da síntese da metionina a partir da homocisteína diminuindo o risco para doenças cardiovasculares.

O Se modifica a síntese das prostaglandinas e tromboxanas impedindo a concentração de prostaciclina no endotélio vascular e a agregação plaquetária. Portanto, evita a formação de coágulos que levam à trombose arterial (ALARCÓN-NAVARRO e MARTINEZ, 2000). Recentemente observou-se que ratos com deficiência em Se têm um decréscimo significativo da atividade da metiltransferase homocisteína betaína, o que provoca a diminuição da síntese de metionina, a partir da homocisteína (DAVIS e UTHUS, 2002).

2.2.8. Deficiência e excesso

Uma quantidade de selênio diária menor ou igual a 11 µg/ dia leva à deficiência, enquanto valores acima de 850 µg/ dia levam à toxicidade por esse elemento (ESTADOS UNIDOS – NCR, 2001).

Em algumas localidades da Ásia e África foram registrados casos da doença de Keshan, uma cardiomiopatia endêmica que responde à administração de selênio (ESTADOS UNIDOS, 2001; FOX e FAIRWEATHER-T, 1999). Os sinais da doença de Keshan na forma crônica,

incluem degeneração dos músculos, especialmente necrose multifocal e fibrose no miocárdio, cardiomegalia, isquemia do miocárdio, eletrocardiograma anormal, edema pulmonar, e cinco por cento dos doentes tem hipertrofia do fígado.

Outra doença associada à deficiência de selênio é a doença de Kashin-Beck, que é uma osteoartropatia endêmica. Esta doença afeta primariamente crianças entre idades de 5 e 13 anos morando em algumas regiões da China e União Soviética, e atualmente também encontrada em Israel (GONZAGA, 2002; ESTADOS UNIDOS, 2001; FOX e FAIRWEATHER-T, 1999).

Casos avançados da doença são caracterizados pelo alargamento e deformidade das articulações. A principal mudança patológica é a múltipla degeneração e necrose da cartilagem hialina do tecido ósseo, resultando em sinais clínicos de: baixa estatura, alargamento das articulações, dor óssea, e osteoartrite secundária (FOX e FAIRWEATHER-T, 1999; SHILS, et al., 1998).

Dentre os sinais de toxicidade de selênio, podemos encontrar náuseas, odor de alho na respiração, perda de cabelo, unhas quebradiças com pontos brancos, lesões na pele, fadiga, entre outros (SILVA, 2002; WHO, 1993).

O limite superior tolerável de ingestão (UL) relativo ao selênio é 400 µg/dia. Uma ingestão acima de 910 µg/dia pode causar alterações nas unhas das mãos e dos pés (ESTADOS UNIDOS – NRC, 2001).

2.2.9. Parâmetros de avaliação do estado nutricional dos indivíduos relativo ao selênio

Os estudos sobre avaliação do estado nutricional relativo ao Se no homem incluem usualmente as determinações das concentrações deste

mineral no soro ou plasma (medidas de curto prazo), atividade da glutathione peroxidase e da concentração de Se nos eritrócitos (medidas de médio prazo) além da determinação de Se nas unhas e cabelos (indicando estado nutricional de longo prazo) (OMS, 1998; OVASKAINEN, 1993)

2.3. Crescimento Populacional

O envelhecimento da população mundial é cada vez maior diante das atuais tendências de diminuição da taxa de natalidade e de mortalidade infantil, como também do aumento do controle de inúmeras doenças que acometem a população em geral. Assim, o segmento populacional da terceira idade tem crescido em importância, uma vez que o envelhecimento da população é um fenômeno global que traz importantes repercussões nos campos social e econômico, especialmente em países em desenvolvimento (VERAS et al, 1995).

Desde a década de 50, tem ocorrido crescimento expressivo da população idosa nos países do Terceiro Mundo. Essa tendência deverá, segundo projeções demográficas, se tornar ainda mais acelerada até o primeiro quarto deste século, onde estima-se aumento na ordem de 236% (de 23,3 para 78,2 milhões de pessoas idosas), aproximadamente duas vezes maior que o percentual de aumento da população total (SCHOUERI, et al., 2000; MORIGUTI, et al., 1998; NAJAS, 1995).

Os dados contidos na Tabela 1 são ainda mais significativos. Comparando-se as projeções de populações de países que terão no ano de 2025 mais de 6 milhões de indivíduos com 60 ou mais anos de idade, com os dados existentes em 1950, pode-se verificar que, entre os 11 países com maior população de idosos, oito são considerados subdesenvolvidos (SCHOUERI, et al., 2000).

Tabela 1: Mudança na população de países que terão mais de 16 milhões de pessoas com 60 anos ou mais no ano de 2025.

		População (10 ⁶)					
	Classificação 1950	1950	1975	2000	2025	Classificação 2025	
China	1º	42	73	134	284	1º	
Índia	2º	32	29	65	146	2º	
CEI	4º	16	34	54	71	3º	
EUA	3º	18	31	40	67	4º	
Japão	8º	6	13	26	33	5º	
Brasil	16º	2	6	14	32	6º	
Indonésia	10º	4	7	15	31	7º	
Paquistão	11º	3	3	7	18	8º	
México	25º	1	3	6	17	9º	
Bangladesh	14º	2	3	6	17	10º	
Nigéria	27º	1	2	6	16	11º	

Fonte: World Health Statistics Annuals, 1979, 1982.

A população brasileira encontra-se em rápido processo de envelhecimento: os últimos estudos demográficos nacionais indicam um contingente populacional de idosos maior que 12 milhões de habitantes, como é demonstrado no censo nacional de 2000 (IBGE, 1999), tendo havido um incremento de 46% no tamanho da população mais idosa em apenas uma década; no ano 2025, os habitantes com 60 ou mais anos de idade comporão, numa estimativa conservadora, um contingente de 31,8 milhões de pessoas, o que situará o Brasil como sexto país em números de idosos (VERAS et al, 1995). A participação das pessoas de 60 anos ou mais de idade na população brasileira passou de 7,4% em 1989 para 8,3% em 1995 e alcançou 9,1% em 1999. Em quatro anos, o número de idosos aumentou em 1.8 milhão – crescimento de 14.5% (IBGE, 1999).

No estado de São Paulo, em 1996, constatou-se que o número de pessoas com 60 anos ou mais alcançou 3.7 milhões (IBGE, 1999). As estimativas demonstram que, desde 1940, os percentuais de indivíduos dessa faixa etária residindo em São Paulo têm sido maiores que nos demais estados brasileiros (SCHOUERI, et al., 2000; CAMARGO & SAAD, 1990).

2.4. Alterações no envelhecimento

Segundo a Organização Mundial da Saúde, de acordo com o critério cronológico, considera-se como idosa, a população de mais de 60 anos (NAJAS, 1995).

O envelhecimento é um processo comum a todos os seres vivos, no entanto, há necessidade de um melhor entendimento quanto às suas bases fisiológicas. Um dos entraves do progresso sobre o conhecimento do envelhecimento foi a caracterização errônea deste processo natural como um estado patológico, tendo, assim, despertado interesse maior em combatê-lo do que entendê-lo. Estima-se que 80% das pessoas com 60 anos ou mais sofrem de alguma doença crônica, sendo comum a pluripatologia. Neste grupo etário, a evolução destas doenças reduz progressivamente as reservas orgânicas, levando à deterioração gradual de sua capacidade funcional. O atendimento ao idoso já se coloca entre as principais necessidades de Saúde Pública, tanto em países desenvolvidos quanto naqueles em desenvolvimento, havendo então, uma enorme necessidade de compreensão dos aspectos orgânicos, psíquicos e sociais desta população (JACOB FILHO & SOUZA, 1994).

Com o aumento da idade ocorrem diversas alterações corporais no indivíduo idoso, como mudanças lentas e progressivas na massa magra e na distribuição da gordura corpórea – perda da massa magra e deposição de gordura na região do tronco e diminuição nos braços e pernas, com consequente prejuízo ponderal muscular com o passar do tempo. O metabolismo basal diminui cerca de 10 a 20% com o avanço da idade. Ocorre uma diminuição do teor total de água do corpo. Há também uma diminuição da estatura com o passar dos anos (cerca de 1 cm por década após os 40 anos) devido à diminuição dos arcos dos pés e aumento da curvatura da coluna e encurtamento da coluna vertebral (WHO, 1995; JACOB FILHO & SOUZA, 1994; FRISANCHO, 1984).

Sabe-se que o envelhecimento está associado a um alto risco de deficiência de micronutrientes devido principalmente à baixa ingestão energética, às peculiaridades fisiopatológicas do processo de envelhecimento e até mesmo às condições sócio-econômicas dos indivíduos que nesta fase da vida costumam ser inadequadas.

Com relação ao selênio, alguns trabalhos têm demonstrado baixas concentrações de selênio sérico e plasmático em adultos com idade ≥ 60 anos. WOOD (1995) reportou uma diminuição na concentração de selênio sérico, verificado também por MONGET (1996) que relata uma alta prevalência (58,8%) de indivíduos franceses idosos com baixos valores de selênio sérico (menor que $0,75\mu\text{mol/L}$).

No Brasil, estudos realizados com idosos evidenciam inadequação de consumo alimentar (VELÁSQUEZ-MELÉNDEZ et al., 1997; NAJAS et al., 1994; TUDISCO et al., 1987;), sendo que alguns autores demonstram preocupação particular com o consumo de micronutrientes. Em relação ao selênio (Se), ainda não se encontram estudos nacionais sobre o estado nutricional de indivíduos idosos, entretanto, a análise de dietas de diferentes regiões do país sugere uma ingestão inadequada deste mineral em algumas regiões (COZZOLINO, 1997; BOAVENTURA & COZZOLINO, 1993; CINTRA & COZZOLINO, 1993) o que sugere a necessidade de um maior aprofundamento no assunto.

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo geral

⇒ Verificar o efeito de uma dieta enriquecida com castanha-do-brasil no estado nutricional relativo ao selênio de idosos não institucionalizados.

3.2. Objetivos específicos

⇒ Avaliar o estado nutricional do grupo de idosos em relação ao selênio antes e depois uma suplementação com castanha-do-brasil;

⇒ Caracterizar a população quanto ao sexo, atividade física, índice de massa corpórea (IMC), renda, patologias e doenças atuais, uso de bebida alcoólica e tabagismo;

⇒ Avaliar o consumo alimentar, quanto a macronutrientes e selênio, antes e depois de uma suplementação com castanha-do-brasil;

⇒ Correlacionar o efeito de uma suplementação com castanha-do-brasil com a concentração de selênio no plasma, eritrócito e unhas;

⇒ Correlacionar as variáveis sexo, presença de hipertensão, realização de atividade física, obesidade e renda com a concentração de selênio no plasma e eritrócito.

4. CASUÍSTICA E MÉTODOS

4.1. Amostragem e Seleção

Este trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo (Anexo 1).

Os 40 participantes desta pesquisa foram indivíduos com idade igual ou superior a 60 anos, voluntários, freqüentadores de atividades programadas para a Terceira Idade da Fundação Julita, entidade localizada no bairro do Jardim São Luiz na cidade de São Paulo, subsidiada pela Prefeitura de São Paulo.

O grupo constituiu-se de 35 mulheres e 5 homens que freqüentam a instituição citada pelo menos duas vezes na semana, participando de atividades culturais, grupos de dança, viagens, culinária, alfabetização. Recebem atendimento médico e odontológico gratuito.

Para o início do estudo foi realizada uma palestra onde foram apresentados os objetivos da pesquisa (anexo 2) e o início da seleção dos interessados. Foram preenchidas fichas com o perfil dos participantes (anexo 3) e após a seleção pela pesquisadora, considerando os fatores de inclusão, os participantes assinaram um termo de consentimento livre e esclarecido (anexo 4) que continha uma breve descrição do projeto, os riscos e benefícios envolvidos, a confidencialidade das informações e a disponibilidade da pesquisadora para contato em caso de dúvidas.

O estudo e a obtenção dos dados ocorreu no período de junho a outubro de 2003.

4.2. Critérios de exclusão

Os critérios de exclusão considerados foram: diagnósticos de câncer, artrite reumatóide, diabetes, uso de suplemento vitamínico mineral e idade inferior a 60 anos. Essa informação foi coletada pela pesquisadora em entrevista pessoal, questionado no Anexo 3 nos itens patologias atuais e fármacos em uso.

4.3. Protocolo Experimental

Após a seleção do grupo, foi feita a primeira coleta de material biológico (sangue e unhas) e recolhido o inquérito alimentar de três dias.

Os participantes ingeriram durante três meses uma unidade de castanha-do-brasil por dia. As castanhas foram procedentes de Manaus/AM, obtidas por doação do fornecedor M. Mutran. As castanhas doadas com casca, apenas foram desidratadas em secador a 45 a 50°C, conforme informado pelo fabricante.

Após esse período de suplementação, foram coletadas novamente amostras biológicas para analisar a influência da suplementação na concentração de selênio no plasma, eritrócito e unhas. Foi solicitado novamente o preenchimento do inquérito alimentar de três dias. O fluxograma da pesquisa está descrito na figura 1.

Quinzenalmente foram feitas reuniões com os participantes e a pesquisadora para o fornecimento da castanha-do-brasil “in natura” a ser consumida nos próximos quinze dias subsequentes e também, para o acompanhamento do grupo e controle da ingestão de castanhas. Nessas reuniões, além do acompanhamento do grupo pela pesquisadora, foi enfatizado a importância do consumo de apenas uma unidade de castanha por dia. Nenhum participante desistiu do estudo nos 90 dias de

suplementação e, a castanha-do-brasil foi muito bem aceita pelo grupo de estudo.

Figura 1: Fluxograma de atividades desenvolvidas durante a pesquisa.

4.4. Avaliação antropométrica

Foram medidos peso e altura dos participantes para a obtenção do Índice de massa corpórea ($IMC = \text{peso} / (\text{altura})^2$) e classificação, segundo PERISSINOTTO, 2002. Os grupos são classificados como desnutridos ($IMC < 20,0$); eutróficos ($20,0 \leq IMC < 30,0$) e obesos ($IMC \geq 30,0$).

Foi utilizada balança digital e estadiômetro para verificação de peso e altura respectivamente, tomando os cuidados de se utilizar o mínimo de roupa possível e manter posição ereta. A medida foi realizada no mesmo dia da primeira coleta de sangue.

4.5. Avaliação do consumo alimentar

O método utilizado para avaliar o consumo alimentar foi o registro de 3 dias de todos os alimentos consumidos no dia. Foi solicitado o registro alimentar diário dos alimentos consumidos durante 2 dias na semana e 1 dia no final de semana antes e após a suplementação com castanha-do-brasil.

Foi realizada uma reunião com os integrantes da pesquisa para prestar esclarecimentos sobre a importância da colaboração dos mesmos em oferecerem informações corretas e precisas sobre o seu consumo alimentar, bem como esclarecer de que forma os voluntários deveriam anotar as informações pertinentes às medidas caseiras utilizadas. Após a reunião foi entregue aos participantes 3 formulários padrão (Anexo 5) para o preenchimento do registro alimentar dos 3 dias.

A análise desses dados foi feita através do programa de computação VIRTUAL NUTRI, versão 1.0 para Windows 1996 (PHILIPPI, et al., 1996). A análise estatística dos dados foi feita pelo software Statistica versão 6.0, esta descrita no item 4.16.

4.6. Perfil social e de saúde

Para a avaliação desses parâmetros foi preenchido o formulário Perfil do participante (anexo 3) em entrevista individual com a pesquisadora. Este continha questões abertas e fechadas sobre dados pessoais (nome, data de nascimento, sexo), aspectos sociais (indicadores do estilo de vida – prática de atividade física, tabagismo, consumo de bebida alcoólica), renda, estado de saúde (doenças/ patologias atuais, presença de doenças crônicas não transmissíveis e medicamentos consumidos).

Quanto à prática de atividade física, esta foi classificada levando-se em consideração: 1) o número de vezes da prática e o tempo de atividade (mínimo de 45 minutos) e 2) o tipo de prática, caminhada, dança ou ginástica.

A renda mensal de cada participante foi obtida através de entrevista pessoal com a pesquisadora, onde foi questionado o valor dos rendimentos mensais em reais, de cada idoso. Os valores foram classificados em até três salários mínimos e mais de três salários mínimos.

4.7. Determinação da composição centesimal e de selênio na castanha-do-brasil

A castanha-do-brasil utilizada neste experimento foi doada por um exportador brasileiro, que obtém as castanhas da região de Belém-PA. As amostras obtidas foram utilizadas para o consumo dos participantes e para a análise de composição centesimal.

A análise da castanha-do-brasil foi realizada em triplicata de acordo com as normas estabelecidas pela AOAC (1990).

Determinação de umidade foi realizada pelo método gravimétrico, em estufa regulada a 105°C, até obtenção de peso constante.

Para determinação de cinzas, foi utilizado método gravimétrico. A amostra primeiramente foi incinerada e após tal procedimento colocada em mufla à 550°C até obtenção de peso constante.

A concentração de proteína foi obtida através de análise de nitrogênio total utilizando o método de Micro-Kjeldahl. O fator 6,25 foi aplicado para conversão do teor de nitrogênio em proteína.

O extrato etéreo ou teor lipídico foi determinado por gravimetria, após extração com éter etílico p. a., em extrator contínuo de Soxhlet.

A porcentagem de carboidratos, incluindo a fração fibras foi calculada por meio da diferença entre 100, e a soma das porcentagens de umidade, cinzas, proteína e lipídios.

O selênio foi determinado pelo método de análise de espectrometria de absorção atômica por geração de hidretos acoplado a cela de quartzo (HGQTAAS), este padronizado no Laboratório de Nutrição e Minerais – USP (GONZAGA, 2002).

4.8. Coleta dos materiais biológicos e avaliação bioquímica

4.8.1. Sangue

A coleta de sangue foi realizada na própria Fundação Julita devido maior comodidade dos participantes e facilidade de deslocamento. Foram coletados 20 mL de sangue de cada participante por pessoal especializado, em jejum de 12 horas, utilizando seringas e agulhas descartáveis. O sangue foi colocado em tubos contendo anticoagulante EDTA (ácido etilenodiamino tetracético) e foi acondicionado em isopor com gelo por 2 horas até a chegada ao laboratório de Nutrição e Minerais – USP para análise. Procedeu-se a centrifugação do sangue, onde o plasma e eritrócito foram

separados inicialmente sob as condições de 3000 xg por 15 minutos a 4°C, sendo o plasma, retirado com uma pipeta de pasteur e acondicionado a -80°C. Após a separação do plasma, o eritrócito foi preparado segundo a técnica padronizada no Laboratório de Nutrição-Minerais/ FCF-USP, na qual a massa eritrocitária passou por três lavagens consecutivas com 5 mL de solução salina a 0,9% (homogeneizada lentamente por inversão), e centrifugada sob as condições de 10000 xg por 10 minutos a 4°C, descartando-se o sobrenadante. Foi extraído o conteúdo da papa de hemácias com auxílio de uma pipeta de pasteur, tomando-se o cuidado para aspirar o conteúdo do centro e sem tocar no fundo do tubo, e após este procedimento também foram mantidos à temperatura de -80°C até análise. Foram separadas amostras de plasma e eritrócito para a determinação de selênio.

Este procedimento foi feito na primeira e segunda coleta de sangue, esta última após a suplementação com castanha-do-brasil. Foi analisada a concentração de selênio nessas amostras pelo método HGQTAAS descrito em 4.9.

4.8.2. Unhas

Paralelamente, foi coletada uma amostra de unhas pelo próprio participante na sua residência antes da suplementação com castanha-do-brasil e após três meses de suplementação. A pesquisadora forneceu um saco plástico com o nome do participante e data da coleta para ser preenchida no dia da coleta. As seguintes orientações foram dadas: deixar as unhas crescerem, evitar a utilização de esmaltes, recolher as unhas nos sacos plásticos, identificar com a data da coleta.

Após o recebimento desse material, este foi submetido à lavagem com detergente neutro (Extran – MERCK) a 5% por 24 horas, sonicação por 10

minutos, enxágue 10 vezes com água deionizada e secagem em estufa ventilada a 105°C por 12 horas para retirada da umidade residual.

A quantidade de unhas utilizadas na determinação de selênio variou de 100 a 500 mg por amostra. As unhas dos pés foram misturadas com as unhas das mãos devido a quantidade de amostra não ser suficiente para a realização das análises.

Foi analisada a concentração de selênio nas amostras de unhas pelo método HGQTAAS descrito em 4.9.

4.9. Espectrometria de absorção atômica por geração de hidretos acoplados a cela de quartzo (HGQTAAS).

O fundamento do método consiste na separação do selênio das amostras e formação de hidretos gasosos de selênio (H_2Se), originados da reação dos compostos de selênio (IV), com o borohidreto de sódio e o ácido clorídrico, conforme mostra a reação abaixo discriminada:

Inicialmente o hidrogênio ($\text{H}_{\text{nasc.}}$) em alta reatividade (*in statu nascendi*) é formado pela reação com o borohidreto de sódio e o ácido clorídrico. A seguir o hidrogênio "*in statu nascendi*" reduzirá o selenito (SeO_3^{2-}) a selenido (Se^{2-}).

Compostos do selênio (VI) não reagem sob estas condições para o hidrogênioselenido, e precisam ser reduzidos para o Se (IV) por adição anterior de HCl 1,2N.

Os hidretos formados na reação, foram quantificados pelo espectrômetro de absorção atômica e calculados para valores de Se em $\mu\text{g L}^{-1}$. A vantagem da geração e da separação de hidretos de selênio, está na eliminação de interferências da matriz, e da correção do background (Zeeman).

O procedimento para a execução da técnica analítica obedeceu às etapas que seguem:

1. Pesagem das amostras: pesar entre 50 e 350 mg de amostra seca de alimentos; 450 μL de plasma; 400 μL de eritrócito e 100-200 mg de unhas in natura. Todas as análises foram feitas em duplicata.

2. Digestão das amostras: Colocar as amostras em 5 mL de ácido nítrico 68% (deixar durante a noite); digerir em bloco digestor em temperatura de até 150°C (até ficar transparente); dependendo da amostra o volume total de ácido é de 5-20 mL. O tempo de digestão variou de 48 a 72 horas.

3. Redução do Selênio: Colocar 5 mL de HCl 1,2 N, e aquecer por 2 horas até 150°C, para redução do Se(VI) para Se (IV).

4. Condições do método: As condições foram padronizadas por GONZAGA (2002).

5. Manuseio do equipamento: Espectrofotômetro de absorção atômica, marca HITACHI, modelo Z-5000 e gerador de hidretos. Para o manuseio foram verificadas instruções detalhadas no manual do equipamento.

6. Leitura: Diluir as amostras para um volume conhecido (ex: amostras digeridas diluídas para balão volumétrico de 25 mL, exceto castanha, que pelo alto teor de selênio, foi diluída para 100 mL); Usar uma solução de NaBH_4 a 1% em 0,4% NaOH; curva de calibração, e solução de HCl 1,2 N. Levar as amostras e solução para o aparelho e proceder leitura do selênio em triplicata para cada amostra.

7. Cálculo: Subtrair o valor da leitura do Se das amostras (C) do valor do branco(B), (C-B=D); Multiplicar o D pelo fator de diluição (f), (D x f = G), onde G, é Se em $\mu\text{g L}^{-1}$; Usar regra de 3 simples, para transformar G em $\mu\text{g g}^{-1}$.

A reprodutibilidade do método (HGQTAAS), foi conseguida, pela análise de amostras em duplicata com leitura em triplicata e a validade, pela recuperação do padrão NIST®1567 (wheat flour) e SERONORM® plasma e eritrócito. O limite de detecção do método foi menor que 0,1 $\mu\text{g L}^{-1}$.

4.10. Determinação de selênio no plasma

Duas alíquotas de 450 μL de amostras do plasma de cada participante, foram digeridas por via úmida ácida, por 6 horas, a 150⁰C, reduzidas as soluções para selênio IV, soluções estas, diluídas para 25 mL com a realização de leitura em triplicata de medidas por HGQTAAS, para cada uma dessas duplicatas, sendo que os valores encontrados foram expressos em concentrações de $\mu\text{g L}^{-1}$.

4.11. Determinação de selênio no eritrócito

Duas alíquotas de 400 μL de amostras da massa eritrocitária de cada participante, foram digeridas por via úmida ácida por 14 horas a 150⁰C, reduzidas as soluções para selênio IV, sendo estas soluções diluídas para 25 mL com leitura em triplicata medidas por HGQTAAS, para cada duplicata, com os valores encontrados expressos em concentrações de $\mu\text{g L}^{-1}$.

4.12. Determinação de selênio nas unhas

Devido à quantidade reduzida de amostra, 100 a 500 mg de um pool de unhas de cada participante, foi feita apenas uma determinação por participante antes e depois da suplementação com castanha-do-brasil. As amostras foram digeridas por via úmida ácida, por 10 horas, a 150°C, reduzidas as soluções para selênio IV, sendo estas soluções diluídas para 25 mL com leitura em triplicata medidas por HGQTAAS, para cada amostra, com os valores encontrados expressos em concentrações de $\mu\text{g g}^{-1}$.

4.13. Controle da metodologia de análise de selênio

Adotou-se como padrão de referência para controle da metodologia utilizada para análise de selênio na castanha-do-brasil o material certificado NIST®1567, preparado em alíquotas de 250 mg por digestão ácida via úmida, seguindo o mesmo procedimento recebido pela amostra.

A recuperação dos valores indicados pelo fabricante oscilou entre 81,8 a 118% de recuperação. Foi pré-estabelecido que uma análise cujo material de referência tivesse uma recuperação menor que a indicada pelo fabricante seria desprezada e a análise repetida.

O padrão de referência utilizado para o controle da metodologia para análise de selênio em material biológico (plasma e eritrócito) foi o material certificado SERONORM®, cujo conteúdo de cada frasco foi dissolvido em 5 mL de água deionizada e após 30 minutos foi feito o processamento por digestão ácida via úmida, como as demais amostras.

4.14. Curva de calibração para a análise de selênio

A curva de calibração foi feita sempre antes de iniciar as análises. Partindo-se de uma solução de trabalho (S.T.) com concentração conhecida ($1\mu\text{g/mL}$), foram feitas várias diluições com diferentes concentrações. Foi utilizado um volume da solução padrão, 20 mL da solução de HCl 1,2 N e completado com água deionizada num balão volumétrico de 100 mL. A tabela 2 mostra os valores utilizados para a preparação da curva de calibração para análise de selênio.

Tabela 2 – Preparação da curva de calibração para análise de selênio.

Concentração ($\mu\text{g/L}$)	Volume do balão volumétrico	
	100 mL	
	x (S.T.)	y (HCl 1,2 N)
0	-	+ 20 mL
0,1	10 μL	
0,3	30 μL	
0,5	50 μL	
1,0	100 μL	
3,0	300 μL	
5,0	500 μL	
10,0	1,0 mL	
15,0	1,5 mL	
20,0	2,0 mL	
30,0	3,0 mL	

4.15. Preparação das soluções de trabalho

4.15.1. Solução de borohidreto de sódio (NaBH_4)

Para o preparo da solução de borohidreto de sódio a 1% foram pesadas 4,0 gramas de hidróxido de sódio e dissolvidas em água deionizada (cerca de 20mL). Separadamente, foram pesadas 10,0 gramas de borohidreto de sódio que foram dissolvidas na solução de hidróxido de sódio. A solução foi colocada em balão volumétrico de 1 L e completada com água deionizada.

4.15.2. Solução de ácido clorídrico 1,2 N (HCl)

Para o preparo de uma solução de HCl 1,2 N foram diluídos 126,8 mL de ácido clorídrico suprapur® em balão volumétrico de 1 L já com metade do volume de água deionizada, pois a reação é exotérmica. O volume do balão foi completado com água deionizada.

As duas soluções foram preparadas no momento da análise.

4.16. Análise Estatística dos dados

4.16.1. Nutrientes da dieta

O consumo de energia, macronutrientes e selênio dos idosos, foi comparado ao parâmetro internacionalmente utilizado, com base nos estudos populacionais do NRC (DRI, 2000). Foram calculados média, mediana, desvio padrão, coeficiente de variação, valor mínimo e máximo de todos os nutrientes que compuseram as refeições dos participantes da pesquisa, obtidos pelo registro alimentar de 3 dias.

Os resultados foram tratados pelo software Statistica versão 6.0 e demonstrados em gráficos de Box-plot e histogramas. O box-plot fornece informações sobre locação, dispersão, assimetria, comprimento da cauda e medidas discrepantes (outliers). A altura do retângulo é definida pelos quartis Q1 e Q3 que mostra 50% dos valores. O ponto dentro deste retângulo (Q2) mostra a mediana dos valores. As semi-retas ligam respectivamente os quartis Q1 e Q3 ao valor mínimo e máximo do conjunto de dados. Os valores extremos são apresentados por asterístico (outliers) que são interpretados como possíveis pontos “desgarrados” que podem afetar de forma adversa às decisões a serem tomadas a partir da análise de dados se não forem devidamente considerados. Para essa demonstração gráfica foram considerados somente aqueles participantes que preencheram todos os inquéritos alimentares antes e depois da suplementação com castanha-do-brasil.

Para se obter a medida de validade corrigida pelos componentes de variação intrapessoal e interpessoal na dieta, foi necessário usar análise de variância (ANOVA). Nesta análise, a unidade de observação aleatória foi o consumo médio de energia e macronutrientes registrados pelos três dias de registro alimentar de 24 horas. Neste teste foi determinado o coeficiente de variação intrapessoal (within groups- CVw) e o interpessoal (between groups- CVb).

Para testar se os valores de proteínas, carboidratos, lipídeos, selênio e consumo de energia encontrados nos inquéritos de consumo alimentar antes e após a suplementação com castanha-do-brasil tiveram ou não diferença significativa, foi feito um teste de diferença de médias através do software Stata, versão 7.0. Foi testada a hipótese H_0 de os valores serem iguais antes e depois da suplementação com castanha-do-brasil.

A adequação da ingestão de selênio, carboidratos e proteínas foi testada em relação a EAR, pelo teste-z, demonstrando a aceitação ou rejeição da hipótese H_0 da população estudada estar com o EAR adequado. As outras variáveis não foram testadas pois não possuem valores de EAR

definidos. Considerando a distribuição dos valores uma distribuição normal padrão, foi utilizada a fórmula abaixo:

$$P(x < EAR) = P[(x - \mu) / \sigma < (EAR - \mu) / \sigma] = P(Z < z_0); z_0 = (EAR - \mu) / \sigma$$

Onde:

P = probabilidade

X = variável

EAR = necessidade média estimada do nutriente em questão

μ = média da ingestão do nutriente em questão

σ = desvio padrão da ingestão média

Z = normal padrão

$z_0 = (EAR - \mu) / \sigma$

O resultado deste cálculo, foi comparado ao valor “z” de uma tabela estatística de distribuição normal, que mostra o nível de significância (p). Definimos um nível de significância mínimo de 5% ($p < 0,05$) para aceitar a hipótese H_0 da EAR dos participantes estar adequada.

4.16.2. Indicadores bioquímicos

Foram calculados média, mediana, desvio padrão, coeficiente de variação, valor mínimo e máximo da concentração de selênio no plasma, eritrócito e unhas dos participantes da pesquisa.

Para testar se os valores da concentração de selênio no plasma, eritrócito e unhas antes e após a suplementação com castanha-do-brasil tiveram ou não diferença significativa, foi feito um teste de diferença de médias através do software Stata, versão 7.0. Foi testada a hipótese H_0 de os valores da concentração de selênio do plasma, eritrócito e unhas serem iguais antes e depois da suplementação com castanha-do-brasil.

Através do software Statistica versão 6.0 foram representados os resultados da concentração de selênio no plasma, eritrócito e unhas antes e depois da suplementação com castanha-do-brasil pelos gráficos de box-plot e histogramas.

4.16.3. Correlação entre variáveis de interesse

Através do software Stata versão 7.0 foi analisada a influência das variáveis sexo, idade, existência de hipertensão, prática de atividade física, obesidade e renda sobre a concentração de selênio no plasma e eritrócito antes e depois da suplementação com castanha-do-brasil.

Uma dificuldade encontrada para estimar a correlação entre as variáveis em questão com o nível de Selênio se deve a impossibilidade de controlar tais variáveis para a amostra disponível.

Uma forma para contornar esses possíveis problemas da amostra em relação a cada uma dessas variáveis é fazer uma regressão de todas estas variáveis simultaneamente. Ou seja, o controle de cada uma dessas possíveis variáveis explicativas é feito pelas outras variáveis explicativas contidas no modelo.

Tal problema não ocorre com o teste de diferença de médias apresentado (selênio antes e depois da suplementação) já que neste caso é utilizada a mesma população antes e depois, ou seja, pode-se assumir que todas as outras variáveis que podem influenciar o nível de selênio em uma pessoa se mantiveram constantes antes e depois da suplementação. Logo, pode-se atribuir apenas ao evento “suplementação” a alteração no nível de selênio. Vale dizer, o nível de selênio na amostra pesquisada antes da suplementação constitui o contra-factual para o nível de selênio após a suplementação.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Idade, peso, estatura e IMC

Os participantes apresentaram uma média de idade de $68,2 \pm 7$ anos, peso de $69,4 \pm 12,7$ kg, estatura de $158,3 \pm 7,5$ cm e IMC de $27,6 \pm 4,2$ kg/m², como mostra a tabela 3.

Tabela 3 – Valores de peso (kg), estatura (cm), IMC (kg/(m)²) e classificação do estado nutricional (PERISSINOTTO, 2002) de indivíduos idosos (≥ 60 anos), não institucionalizados submetidos à avaliação nutricional relativa ao selênio, São Paulo, 2004.

Participantes	Idade	Peso (kg)	Estatura (cm)	IMC	Classificação
A.M.F.	66	85	156,0	34,93	Obesidade
A.O.D.	76	56	146,0	26,27	Eutrofia
A.V.B.	72	64	165,0	23,51	Eutrofia
A.M.L.	79	54	152,0	23,37	Eutrofia
A.G.F.	68	65	147,0	30,08	Obesidade
A.B.C.	70	64	160,0	25,00	Eutrofia
A.R.P.	60	98	160,0	38,28	Obesidade
C.O.S.	67	86	157,0	34,89	Obesidade
D.P.S.	62	74	168,0	26,22	Eutrofia
D.L.A.	68	76	163,0	28,60	Eutrofia
E.V.R.	63	82	159,0	32,44	Obesidade
E.A.S.	79	72	165,0	26,45	Eutrofia
E.C.C.	66	60	159,0	23,73	Eutrofia
G.C.C.	67	58	158,0	23,23	Eutrofia
H.M.T.	63	50	155,0	20,81	Eutrofia
H.M.A.	81	73	160,0	28,52	Eutrofia
I.D.S.	65	63	163,0	23,71	Eutrofia
I.E.S.S.	61	57	158,0	22,80	Eutrofia
J.J.S.F.	60	64	167,0	22,50	Eutrofia
L.M.J.	73	55	150,0	24,44	Eutrofia
M.J.P.	60	70	163,0	26,35	Eutrofia
M.C.T.	61	59	150,0	26,22	Eutrofia
M.E.S.O.	63	55	150,0	24,44	Eutrofia
M.J.B.M.	61	81	160,0	31,64	Obesidade

M.P.M.	78	74	152,0	32,03	Obesidade
M.S.A.	65	108	173,0	36,09	Obesidade
M.T.P.S.	63	70	161,0	27,00	Eutrofia
N.M.S.	60	53	149,0	23,87	Eutrofia
N.B.S.	69	65	157,0	26,37	Eutrofia
S.O.B.	68	77	172,0	26,03	Eutrofia
T.A.C.	76	66	150,0	29,33	Eutrofia
T.M.E.	62	67	160,0	26,17	Eutrofia
V.P.S.	67	83	161,0	32,02	Obesidade
M.C.L.P.	67	70	145,0	33,29	Obesidade
J.J.S.	74	82	175,0	26,78	Eutrofia
G.S.	81	73	158,0	29,24	Eutrofia
I.A.R.	75	52	147,0	24,06	Eutrofia
A.P.R.	86	65	153,0	27,77	Eutrofia
M.C.O.	60	84	163,0	31,62	Obesidade
H.G.S.	67	67	165,0	24,61	Eutrofia
Média	68,2	69,4	158,3	27,6	

A figura 2 representa a distribuição de IMC dos participantes da pesquisa, segundo a classificação de PERISSINOTTO, 2002.

Figura 2 – Distribuição dos valores de IMC (PERISSINOTTO, 2002), desnutrição ($IMC < 20,0$), eutrofia ($20,0 \leq IMC < 30,0$) e obesidade ($IMC \geq 30,0$) de indivíduos idosos (≥ 60 anos), não institucionalizados, São Paulo, 2004.

Dentre os resultados encontrados, o percentual de eutrofia foi de 72,5% e obesidade 27,5%. Não houve caso de desnutrição.

5.2. Sexo

A figura 3 representa a distribuição referente a sexo dos 40 participantes da pesquisa, 87,5% mulheres e 12,5% homens.

Figura 3- Distribuição relativa ao sexo dos participantes da pesquisa (≥ 60 anos), não institucionalizados, submetidos à avaliação do estado nutricional relativo ao selênio, São Paulo, 2004.

5.3. Atividade física

A figura 4 representa a distribuição dos participantes quanto à prática de atividade física.

Figura 4- Distribuição dos participantes quanto a pratica de atividade física entre 40 indivíduos idosos (≥ 60 anos), não institucionalizados, submetidos à avaliação do estado nutricional relativo ao selênio, São Paulo, 2004.

Dos 47,5% do total de participantes que praticam algum tipo de atividade física, 10,0% relataram realizar com uma frequência de uma vez por semana, 20,0% duas vezes por semana e 17,5% três vezes por semana ou diariamente. As atividades físicas praticadas foram caminhada e dança, atividades estas estimuladas pela Fundação Julita onde os participantes freqüentam. O percentual de participantes que não praticam nenhum tipo de atividade física foi de 52,5%.

SILVA (2002) encontrou percentual de 60% de sedentarismo em mulheres idosas não institucionalizadas e MARTINS e colaboradores (1999) encontraram percentual de 20 a 40% de sedentarismo em mulheres da área

metropolitana de São Paulo, numa relação inversamente proporcional ao estrato social.

Muitos estudos têm relacionado o aparecimento de doenças crônicas não transmissíveis com o envelhecimento (WHO, 1990). A prevalência de sedentarismo neste grupo demonstra uma preocupação em incentivar a prática de atividade física como caráter preventivo a essas doenças.

5. 4. Renda

Em entrevista pessoal com a pesquisadora foi questionada a renda dos idosos. A figura 5 mostra a distribuição dos valores da renda dos participantes.

Figura 5- Distribuição da renda (%), de 36 idosos (≥ 60 anos), não institucionalizados, submetidos à avaliação do estado nutricional relativo ao selênio, São Paulo, 2004.

A figura 6 mostra qual é a fonte de renda dos participantes.

Figura 6- Fonte de renda (%), de 36 idosos (≥ 60 anos), não institucionalizados, submetidos à avaliação do estado nutricional relativo ao selênio, São Paulo, 2004.

A maioria dos idosos (77,8%) tem sua renda de pensões recebidas do governo equivalentes a um salário mínimo (R\$ 240,00). As citadas foram pensão por idade, por falecimento do marido, por invalidez, por falecimento do filho. Aposentados por tempo de serviço representaram 13,9% e a faixa recebida variou de R\$ 240,00 a R\$ 1000,00. Poucos idosos (5,6%) relataram não possuir renda, mas moram com familiares que possuem fonte de renda para sustentar a casa. Economicamente ativa apenas uma idosa que trabalha na própria instituição onde foi feito o estudo.

Trata-se portanto de uma população que em sua maioria recebe um salário mínimo.

5.5. Patologias/ Doenças atuais

Em entrevista pessoal com a pesquisadora foram determinadas as patologias e doenças atuais. A porcentagem de indivíduos com hipertensão foi alta, de 55%. Outras doenças/ patologias foram relatadas, porém com porcentagens bem menores, como labirintite 5%, depressão 7,5%, hipercolesterolemia 5%, hipotireoidismo 7,5%, gastrite 5% e osteoporose 5%.

5.6. Uso de bebida alcoólica

Na mesma entrevista pessoal com a pesquisadora foi questionado o uso de bebida alcoólica. A maioria dos participantes, 95%, não consome qualquer tipo de bebida alcoólica. Os 5% restantes consomem bebida alcoólica moderadamente, somente em finais de semana, em eventos sociais.

5.7. Tabagismo

O uso de cigarro ou outro tipo de fumo foi também questionado pela pesquisadora. Nenhum participante relatou seu uso.

5.8. Avaliação do Consumo Alimentar

Foram realizados 2 inquéritos alimentares em triplicata, antes e depois da suplementação com castanha-do-brasil. O primeiro inquérito foi feito com 36 participantes e o segundo inquérito com 26 participantes. Embora tenham sido tomados cuidados iniciais quanto ao preenchimento dos inquéritos alimentares como a realização de palestra explicativa e distribuição de folhetos explicativos, alguns tiveram a necessidade de serem excluídos, devido ao preenchimento não satisfatório, como por exemplo, falhas no preenchimento das quantidades e qualidade dos alimentos.

A tabela 4 apresenta os resultados de energia, proteínas, lipídios, carboidratos e selênio obtido pelo software Virtual Nutri do primeiro e segundo inquérito alimentar.

Tabela 4. Distribuição de energia, selênio e composição centesimal^a de proteína, lipídeos e carboidratos por meio do programa Virtual Nutri nas dietas de 36 (1º inquérito) e 26 (2º inquérito) idosos não institucionalizados, São Paulo, 2004.

Inquérito	Proteína (%)		Lipídeo (%)		Carboidrato (%)		Energia (kcal)		Selênio (µg/ dia)	
	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2
Média	16,3	15,9	24,4	24,3	59,2	59,3	1542,3	1545,7	66,9	116,2
Mediana	16,7	16,3	23,0	24,3	60,1	58,0	1537,6	1428,1	64,8	108,1
DP ^b	2,7	4,2	7,7	7,7	8,9	9,2	458,1	424,3	27,8	29,1
CV ^c	0,3	0,3	0,4	0,4	0,2	0,2	0,3	0,3	0,5	0,5
V máx ^d	22,8	26,5	45,3	45,3	79,4	84,2	2639,1	2754,6	165,5	185,6
V mín ^e	9,4	7,7	11,2	8,2	37,7	45,5	803,4	1071,0	19,4	75,2

1- primeiro inquérito alimentar, sem suplementação com castanha-do-brasil

2- segundo inquérito alimentar, com suplementação com castanha-do-brasil

a- questionários em triplicata

b- DP: desvio padrão

c- CV: coeficiente de variação

d- V máx: valor máximo

e- V mín: valor mínimo

5.8.1. Carboidratos

Os valores de consumo de carboidratos encontrados na dieta antes e depois da suplementação com castanha-do-brasil foram em média de 59,2 e 59,3% respectivamente, valores estes ligeiramente menores em relação à recomendação de 60-70% do valor energético total (VET), (DRI, 2000).

Através do teste de diferença de médias, constatou-se que não existe diferença significativa entre os resultados encontrados de carboidratos antes e depois da suplementação.

Para os carboidratos que possuem valores de EAR definidos, 100 gramas/ dia para esta faixa etária (DRI, 2002), foi aceita a hipótese H_0 de a população estar com os valores de EAR adequados ($p < 0,05$) tanto antes quanto depois a suplementação com castanha-do-brasil.

Como mostram os gráficos de box plot e histograma a seguir, houve um aumento da distribuição dos participantes no que diz respeito ao consumo de carboidratos depois da suplementação. Isso pode ser explicado pela variação intra-individual de consumo alimentar nos três dias de avaliação de inquérito alimentar que foi de 16,2%, enquanto que a variação interindividual foi de 24,1%.

Podemos inferir desta maneira que, além da análise da média e mediana, é importante analisar a distribuição e variação dos valores de consumo de nutrientes, para avaliar com mais segurança as mudanças que ocorreram no grupo com a intervenção deste estudo.

Figura 7- Demonstração do consumo diário de carboidratos (%) antes da suplementação com castanha-do-brasil, conforme análise pelo programa Virtual Nutri, de 26 idosos (≥ 60 anos), não institucionalizados, submetidos à avaliação do estado nutricional relativo ao selênio, São Paulo, 2004.

Figura 8- Demonstração do consumo diário de carboidratos (%) após a suplementação com castanha-do-brasil, conforme análise pelo Programa Virtual Nutri de 26 idosos (≥ 60 anos), não institucionalizados, submetidos à avaliação do estado nutricional relativo ao selênio, São Paulo, 2004.

Figura 9- Composição centesimal (%) de carboidratos pela análise do programa Virtual Nutri das dietas de 26 idosos (≥ 60 anos) antes da suplementação com castanha-do-brasil, não institucionalizados, submetidos à avaliação do estado nutricional relativo ao selênio, São Paulo, 2004.

Figura 10- Composição centesimal (%) de carboidratos pela análise do programa Virtual Nutri das dietas de 26 idosos (≥ 60 anos) após suplementação com castanha-do-brasil, não institucionalizados, submetidos à avaliação do estado nutricional relativo ao selênio, São Paulo, 2004.

5.8.2. Lipídeos

Os valores de consumo de lipídeos encontrados na dieta antes e depois da suplementação com castanha-do-brasil foram em média de 24,4 e 24,3% respectivamente. Estes não ultrapassaram 30% do VET, que é a recomendação para este nutriente (DRI, 2000).

Através do teste de diferença de médias, constatou-se que não existe diferença significativa entre os resultados encontrados de lipídeos antes e depois da suplementação.

Como mostram os gráficos de box plot e histograma a seguir, houve um aumento na distribuição dos participantes no que diz respeito ao consumo de lipídeos depois da suplementação. Isso pode ser explicado pela variação intra-individual de consumo alimentar nos três dias de avaliação de inquérito alimentar que foi de 31%, enquanto que a variação interindividual foi de 45% antes e depois da suplementação respectivamente.

Figura 11- Demonstração do consumo diário de lipídeos (%) antes da suplementação com castanha-do-brasil, conforme análise pelo programa Virtual Nutri, de 26 idosos (≥ 60 anos), não institucionalizados, submetidos à avaliação do estado nutricional relativo ao selênio, São Paulo, 2004.

Figura 12- Demonstração do consumo diário de lipídeos (%) após suplementação com castanha-do-brasil, conforme análise pelo programa Virtual Nutri, de 26 idosos (≥ 60 anos), não institucionalizados, submetidos à avaliação do estado nutricional relativo ao selênio, São Paulo, 2004.

Figura 13- Composição centesimal (%) de lipídeos, pela análise do programa Virtual Nutri das dietas de 26 idosos (≥ 60 anos) antes da suplementação com castanha-do-brasil, não institucionalizados, submetidos à avaliação do estado nutricional relativo ao selênio, São Paulo, 2004.

Figura 14- Composição centesimal (%) de lipídeos, pela análise do programa Virtual Nutri das dietas de 26 idosos (≥ 60 anos) após suplementação com castanha-do-brasil, não institucionalizados, submetidos à avaliação do estado nutricional relativo ao selênio, São Paulo, 2004.

5.8.3. Proteínas

Os valores de proteínas encontrados na dieta antes e depois da suplementação com castanha-do-brasil foram em média 16,3 e 15,9% respectivamente, valores estes acima da faixa recomendada de 10-15% (DRI, 2000) do VET para este nutriente.

Através do teste de diferença de médias, constatou-se que não existe diferença significativa entre os resultados encontrados de proteínas antes e depois da suplementação.

Para as proteínas que possuem valores de EAR definidos de 0,66 g/kg/dia (DRI,2002), foi aceita a hipótese H_0 de a população estar com os valores de EAR adequados ($p < 0,05$) tanto antes quanto depois da suplementação com castanha-do-brasil.

Como mostram os gráficos de box plot e histograma a seguir, houve um aumento na distribuição dos participantes no que diz respeito ao consumo de proteínas depois da suplementação. Levando-se em consideração as diferenças intra e interindividuais, estas foram 14,8 e 39,0% respectivamente, o que explica as variações na distribuição dos gráficos.

Figura 15- Demonstração do consumo diário de proteínas (%) antes da suplementação com castanha-do-brasil, conforme análise pelo programa Virtual Nutri, de 26 idosos (≥ 60 anos), não institucionalizados, submetidos à avaliação do estado nutricional relativo ao selênio, São Paulo, 2004.

Figura 16- Demonstração do consumo diário de proteínas (%) após suplementação com castanha-do-brasil, conforme análise pelo programa Virtual Nutri, de 26 idosos (≥ 60 anos), não institucionalizados, submetidos à avaliação do estado nutricional relativo ao selênio, São Paulo, 2004.

Figura 17- Composição centesimal (%) de proteínas antes da suplementação com castanha-do-brasil, pela análise do programa Virtual Nutri das dietas de 26 idosos (≥ 60 anos), não institucionalizados, submetidos à avaliação do estado nutricional relativo ao selênio, São Paulo, 2004.

Figura 18- Composição centesimal (%) de proteínas, pela análise do programa Virtual Nutri das dietas de 26 idosos (≥ 60 anos) após suplementação com castanha-do-brasil, não institucionalizados, submetidos à avaliação do estado nutricional relativo ao selênio, São Paulo, 2004.

5.8.4. Energia

Quanto ao consumo de energia na dieta, a média foi respectivamente 1542,3 e 1545,7 kcal para o primeiro e segundo inquérito alimentar. Estes valores estão abaixo do recomendado de 2557,0 kcal/ dia para homens e 2116 kcal/ dia para mulheres com mais de 60 anos (DRI, 2002).

Através do teste de diferença de médias, constatou-se que não existe diferença significativa entre os resultados encontrados de consumo de energia antes e depois da suplementação.

Como mostram os gráficos de box plot e histograma a seguir, houve uma diminuição na distribuição dos participantes no que diz respeito ao consumo de energia depois da suplementação. Isso pode ser explicado pela variação intra-individual de consumo alimentar nos três dias de avaliação de inquérito alimentar que foi de 45%, enquanto que a variação interindividual foi de 25,4%.

Figura 19- Demonstração do consumo diário de energia (kcal) antes da suplementação com castanha-do-brasil, conforme análise pelo programa Virtual Nutri, de 26 idosos (≥ 60 anos), não institucionalizados, submetidos à avaliação do estado nutricional relativo ao selênio, São Paulo, 2004.

Figura 20- Demonstração do consumo diário de energia (kcal) após suplementação com castanha-do-brasil, conforme análise pelo programa Virtual Nutri, de 26 idosos (≥ 60 anos), não institucionalizados, submetidos à avaliação do estado nutricional relativo ao selênio, São Paulo, 2004

Figura 21- Distribuição de energia (kcal), pela análise do programa Virtual Nutri das dietas de 26 idosos (≥ 60 anos) antes da suplementação com castanha-do-brasil, não institucionalizados, submetidos à avaliação do estado nutricional relativo ao selênio, São Paulo, 2004.

Figura 22- Distribuição de energia (kcal), pela análise do programa Virtual Nutri das dietas de 26 idosos (≥ 60 anos) não institucionalizados, após suplementação com castanha-do-brasil, submetidos à avaliação do estado nutricional relativo ao selênio, São Paulo, 2004.

5.8.5. Selênio

Os valores de selênio encontrados nas dietas antes e depois da suplementação com castanha-do-brasil foram em média 66,9 e 116,2 $\mu\text{g}/\text{dia}$ respectivamente.

Através do teste de diferença de médias, constatou-se que houve diferença significativa ($p < 0,05$) para os valores de selênio antes e depois da suplementação com castanha-do-brasil. Este fato deveu-se a ingestão de uma unidade de castanha-do-brasil ao dia.

Para o selênio, que também possui valor de EAR definido, foi rejeitada a hipótese H_0 da população em estudo estar com os valores de EAR adequados antes da suplementação com castanha-do-brasil. Porém, depois da suplementação, foi aceita a hipótese H_0 da população estar com os valores de EAR adequados ($p < 0,05$). 38% e 0% dos idosos estavam abaixo da ingestão recomendada de 55 $\mu\text{g}/\text{dia}$ (DRI, 2000) antes e depois da suplementação respectivamente. Mesmo após a suplementação, nenhum idoso atingiu os valores de UL, 400 $\mu\text{g}/\text{dia}$ (DRI, 2000).

Outros autores estudaram a ingestão de selênio e relataram uma ingestão insuficiente. SCHMUCK et al. (1996) verificaram num grupo de idosos institucionalizados uma média de consumo de 23 $\mu\text{g}/\text{dia}$. WOOD (1995) comparou grupos de idosos ingleses institucionalizados e não institucionalizados, sendo a média encontrada de 37,5 $\mu\text{g}/\text{dia}$ e 64,7 $\mu\text{g}/\text{dia}$ respectivamente.

Para a avaliação do consumo alimentar referente a minerais, em particular o selênio, cujo teor nos alimentos depende de alguns fatores como a localização geográfica e tipo de solo, devemos ser críticos e avaliar outros parâmetros como por exemplo os bioquímicos para se obter uma análise do estado nutricional relativo ao selênio.

Como mostram os gráficos de box plot e histograma a seguir, houve um deslocamento da distribuição de castanha-do-brasil para valores superiores, confirmando o efeito positivo da suplementação. O valor mínimo consumido foi de 19,44 $\mu\text{g/ dia}$ no primeiro inquérito passando para 75,2 $\mu\text{g/ dia}$ no segundo inquérito.

Figura 23- Demonstração do consumo diário de Selênio ($\mu\text{g}/\text{dia}$) antes da suplementação com castanha-do-brasil, conforme análise pelo programa Virtual Nutri, de 26 idosos (≥ 60 anos), não institucionalizados, submetidos à avaliação do estado nutricional relativo ao selênio, São Paulo, 2004.

Figura 24- Demonstração do consumo diário de Selênio ($\mu\text{g}/\text{dia}$) após a suplementação com castanha-do-brasil, conforme análise pelo programa Virtual Nutri, de 26 idosos (≥ 60 anos), não institucionalizados, submetidos à avaliação do estado nutricional relativo ao selênio, São Paulo, 2004.

Figura 25- Distribuição de Selênio ($\mu\text{g}/\text{dia}$) antes da suplementação com castanha-do-brasil, conforme análise pelo programa Virtual Nutri, de 26 idosos (≥ 60 anos), não institucionalizados, submetidos à avaliação do estado nutricional relativo ao selênio, São Paulo, 2004.

Figura 26- Distribuição de Selênio ($\mu\text{g}/\text{dia}$), pela análise do programa Virtual Nutri das dietas de 26 idosos (≥ 60 anos), não institucionalizados, após suplementação com castanha-do-brasil, submetidos à avaliação do estado nutricional relativo ao selênio, São Paulo, 2004.

5.9. Análise da composição centesimal da castanha-do-brasil

Os resultados de composição centesimal da castanha-do-brasil seguem descritos na tabela 5 :

Tabela 5 : Composição centesimal da castanha-do-brasil conforme determinação analítica (AOAC, 1980), São Paulo, 2004.

	Média	Desvio padrão
Umidade	3,59	0,01
Cinzas	3,53	0,01
Proteína	16,12	0,48
Lipídeos	61,97	0,50
Carboidratos	18,32	*

* Não possui desvio padrão por ser baseado no cálculo da diferença de 100 pelos valores de umidade, proteína e lipídeos.

O valor encontrado de selênio pelo método HGQTAAS foi de 17,29 $\mu\text{g/g}$ com desvio padrão de 0,54. Em média, uma castanha-do-brasil possui três gramas, portanto o valor médio de Se encontrado por castanha foi de 51,87 μg . O coeficiente de correlação da curva padrão de selênio foi de 0,9994 e a recuperação do padrão de referência NIST® 80%, esta aceitável para o método. GONZAGA (2002) encontrou pelo mesmo método valores de 40,0 $\mu\text{g/g}$ para a castanha-do-brasil.

5.10. Indicadores Bioquímicos

5.10.1. Plasma

A avaliação do Se no plasma pode ser usada para se verificar o estado nutricional atual deste mineral no organismo, uma vez que esta fração sanguínea responde rapidamente a qualquer variação do mesmo, podendo ser influenciada pela ingestão diária de selênio, estado fisiológico e patológico (REILLY, 1994; NÉVE, 1991).

A média da concentração de selênio encontrada no plasma antes da suplementação com castanha-do-brasil foi de 73 $\mu\text{g/L}$ e depois da suplementação foi de 109 $\mu\text{g/L}$. O nível de Se no plasma obtido após a suplementação foi 49% superior ao observado inicialmente.

O valor médio observado após a suplementação mostrou-se, de fato, estatisticamente superior ($p < 0,05$) pelo teste de diferença de médias. Foi rejeitada a hipótese H_0 de que ambos os valores das concentrações de Se antes e depois da suplementação sejam estatisticamente iguais.

A tabela 6 demonstra os resultados de média, mediana, desvio padrão, valor máximo e mínimo da concentração de Se no plasma dos participantes antes e depois da suplementação.

Tabela 6: Resultados da concentração de Se no plasma dos participantes antes e depois da suplementação com castanha-do-brasil

	Antes da suplementação	Depois da suplementação
Média ($\mu\text{g/L}$)	73,0	109,0
Mediana ($\mu\text{g/L}$)	72,0	102,0
Desvio padrão	0,03	0,05
Valor máximo ($\mu\text{g/L}$)	144,0	215,0
Valor mínimo ($\mu\text{g/L}$)	21,0	28,0

Em comparação com outros resultados de análise realizados no mesmo laboratório, com grupos não suplementados, demonstrados pela tabela 7, os resultados desta pesquisa mostraram-se coerentes.

Tabela 7: Tabela demonstrativa de resultados obtidos para a concentração de selênio no plasma ($\mu\text{g/L}$) em grupos diferentes de participantes de alguns trabalhos realizados no mesmo laboratório da atual pesquisa.

Autores	Concentração de Se no plasma ($\mu\text{g/L}$)
BOAVENTURA (1994) ¹	49,9
MEDEIROS (1997) ²	75,0
COUTINHO (1999) ³	76,2
SILVA (2002) ⁴	78,5
BEHR (2004) ⁵	73,0
BEHR(2004) ⁶	109,0

1. Média dos resultados obtidos em estudantes
2. Mediana dos resultados obtidos no grupo controle de sua pesquisa
3. Mediana dos resultados obtidos no grupo controle
4. Mediana dos resultados obtidos num grupo de mulheres idosas
5. Média dos resultados antes da suplementação com castanha-do-brasil
6. Média dos resultados depois da suplementação com castanha-do-brasil

Os resultados deste trabalho encontram-se dentro dos valores de 53,0 a 109,0 $\mu\text{g/L}$ propostos por ALEGRIA (1996), para a população saudável de Valencia, na Espanha, e também dentro dos padrões de normalidade apresentados por VERSIECK e CORNELIS (1989) de 53 a 161 $\mu\text{g/L}$, que levam em consideração a idade e os fatores geográficos.

Levando em consideração os resultados deste estudo, 29% dos indivíduos estavam abaixo da recomendação de 53 $\mu\text{g/L}$ relatada pelos estudos citados. Após a suplementação, este valor reduziu para 8%.

A seguir, são apresentados gráficos com análise estatística por histograma e box plot do resultado da análise da concentração de selênio no plasma dos participantes antes e após a suplementação com castanha-do-brasil. Eles mostram os efeitos positivos desta suplementação, que pode ser visualizado pelo deslocamento dos valores para concentrações superiores.

Figura 27- Demonstração da concentração de selênio no plasma de 31 idosos (≥ 60 anos), antes da suplementação com castanha-do-brasil, não institucionalizados, submetidos à avaliação do estado nutricional relativo ao selênio, São Paulo, 2004.

Figura 28- Demonstração da concentração de selênio no plasma de 31 idosos (≥ 60 anos), depois da suplementação com castanha-do-brasil, não institucionalizados, submetidos à avaliação do estado nutricional relativo ao selênio, São Paulo, 2004.

Figura 29- Distribuição da concentração de selênio no plasma, antes da suplementação com castanha-do-brasil, de 31 idosos (≥ 60 anos), não institucionalizados, submetidos à avaliação do estado nutricional relativo ao selênio, São Paulo, 2004.

Figura 30- Distribuição da concentração de selênio no plasma, depois da suplementação com castanha-do-brasil, de 31 idosos (≥ 60 anos), não institucionalizados, submetidos à avaliação do estado nutricional relativo ao selênio, São Paulo, 2004.

5.10.2. Eritrócito

A regulação fisiológica relativa ao metabolismo de selênio implica primeiramente em alterações nas concentrações plasmáticas de selênio, que são 1,0 a 2,0 vezes menores que a concentração de Se nos eritrócitos. Em função desta alteração plasmática a concentração de Se no eritrócito é utilizado como marcador em longo prazo, do estado nutricional relativo ao Se, e reflete a retenção dos estoques corporais. Para que ocorra uma resposta satisfatória na mudança da concentração de Se no eritrócito, é necessário um período de ingestão contínua de Se, pois é exigido para a eritropoiese, ou seja, a formação de novos eritrócitos (VAN DAEL & DEELSTRA, 1993; FAIRWEATHER-TAIT, 1997).

A concentração de Se no eritrócito encontrada neste estudo foi de 45 µg/L e 148 µg/L para antes e depois da suplementação com castanha-do-brasil respectivamente. A concentração de Se no eritrócito obtido após a suplementação foi 229% superior ao observado inicialmente.

O valor médio da concentração de Se no eritrócito após a suplementação mostrou-se, de fato, estatisticamente superior ($p < 0,05$) pelo teste de diferença de médias. Foi rejeitada a hipótese H_0 de que ambas as concentrações de Se no eritrócito, antes e depois da suplementação, fossem iguais.

A tabela 8 demonstra os valores de média, mediana, desvio padrão, valor máximo e valor mínimo da concentração de Se no eritrócito dos participantes antes e depois da suplementação com castanha-do-brasil.

Tabela 8: Resultados da concentração de Se no eritrócito dos participantes antes e depois da suplementação com castanha-do-brasil

	Antes da suplementação	Depois da suplementação
Média ($\mu\text{g/L}$)	45,0	148,0
Mediana ($\mu\text{g/L}$)	45,0	153,0
Desvio padrão	0,02	0,05
Valor máximo ($\mu\text{g/L}$)	91,0	244,0
Valor mínimo ($\mu\text{g/L}$)	15,0	52,0

A tabela 9 demonstra os resultados de outros estudos realizados no mesmo laboratório onde foi realizado o presente estudo.

Tabela 9: Tabela demonstrativa de resultados obtidos para a concentração de selênio no eritrócito ($\mu\text{g/L}$) em grupos diferentes de participantes de alguns trabalhos realizados no mesmo laboratório da atual pesquisa.

Autores	Concentração de Se no eritrócito ($\mu\text{g/L}$)
BOAVENTURA (1994) ¹	74,8
MEDEIROS (1997) ²	97,0
COUTINHO (1999) ³	111,94
SILVA (2002) ⁴	85,52
BEHR (2004) ⁵	45,0
BEHR(2004) ⁶	148,0

1. Média dos resultados obtidos em estudantes
2. Mediana dos resultados obtidos no grupo controle de sua pesquisa
3. Mediana dos resultados obtidos no grupo controle
4. Mediana dos resultados obtidos num grupo de mulheres idosas
5. Média dos resultados antes da suplementação com castanha-do-brasil
6. Média dos resultados depois da suplementação com castanha-do-brasil

Os valores iniciais da concentração de selênio no eritrócito desse estudo são menores do que os resultados evidenciados no mesmo laboratório, e

também, por outros autores, que apresentaram uma variação de 60 a 120 $\mu\text{g/L}$ (ORTUNÕ, 1997) e 149 a 250 $\mu\text{g/L}$ para indivíduos saudáveis (PLEBAN, 1982).

Levando em consideração os resultados deste estudo, 78% dos indivíduos estavam abaixo dos valores referidos na literatura como mínimos (60 $\mu\text{g/L}$) relatada pelo estudo de ORTUNÕ. Após a suplementação, nenhum indivíduo apresentou valores inferiores a este referencial.

A seguir, são apresentados gráficos com análise estatística por histograma e box plot do resultado da análise da concentração de selênio no eritrócito dos participantes antes e após a suplementação com castanha-do-brasil. Eles mostram os efeitos positivos desta suplementação, que pode ser visualizado pelo deslocamento dos valores para concentrações superiores.

Figura 31- Demonstração da concentração de selênio no eritrócito de 30 idosos (≥ 60 anos), antes da suplementação com castanha-do-brasil, não institucionalizados, submetidos à avaliação do estado nutricional relativo ao selênio, São Paulo, 2004.

Figura 32 – Demonstração da concentração de selênio no eritrócito de 30 idosos (≥ 60 anos), depois da suplementação com castanha-do-brasil, não institucionalizados, submetidos à avaliação do estado nutricional relativo ao selênio, São Paulo, 2004.

Figura 33- Distribuição da concentração de selênio no eritrócito, antes da suplementação com castanha-do-brasil, de 30 idosos (≥ 60 anos), não institucionalizados, submetidos à avaliação do estado nutricional relativo ao selênio, São Paulo, 2004.

Figura 34- Distribuição da concentração de selênio no eritrócito, depois da suplementação com castanha-do-brasil, de 30 idosos (≥ 60 anos), não institucionalizados, submetidos à avaliação do estado nutricional relativo ao selênio, São Paulo, 2004.

5.10.3. Unhas

A concentração de Se nas unhas refletem o estado nutricional pregresso de um indivíduo em relação ao Se. Pois, devido à velocidade de crescimento das unhas ocorrer lentamente, cerca de 2 mm por mês, é necessário de seis meses a um ano para se dar o crescimento por completo das unhas. Essas podem ser utilizadas como um marcador do estado nutricional relativo ao Se (COUTINHO, 1999; FAIRWEATHER-TAIT, 1997; GIBSON, 1989).

Os resultados encontrados no presente estudo foram de 0,51 e 0,66 $\mu\text{g/g}$ antes e depois da suplementação com castanha-do-brasil respectivamente. Contudo, no teste de diferença de médias, foi aceita a hipótese H_0 de que ambos os valores são estatisticamente iguais. Este fato se deve provavelmente ao tempo de coleta da segunda amostra de unha que foi de 90 dias, tempo insuficiente para o acúmulo de Se neste tecido.

Os resultados encontrados neste estudo foram condizentes com os resultados de outro estudo que encontrou os valores de 0,52 a 0,62 $\mu\text{g/g}$ nas unhas dos pés de indivíduos residentes na cidade de São Paulo. (MEDEIROS, 1997).

Outro estudo realizado com a população norte americana, que reside em uma região com altas concentrações de Se no solo, e conseqüentemente apresentam uma maior ingestão desse nutriente, evidenciaram uma concentração de Se nas unhas de 1,2 $\mu\text{g/g}$ (SWANSON, 1990).

A tabela 10 demonstra os valores de média, mediana, desvio padrão, valor máximo e valor mínimo da concentração de Se nas unhas dos participantes antes e depois da suplementação com castanha-do-brasil.

Tabela 10: Resultados da concentração de Se nas unhas dos participantes antes e depois da suplementação com castanha-do-brasil

	Antes da suplementação	Depois da suplementação
Média ($\mu\text{g/g}$)	0,51	0,66
Mediana ($\mu\text{g/g}$)	0,43	0,54
Desvio padrão	0,40	0,51
Valor máximo ($\mu\text{g/g}$)	2,32	2,46
Valor mínimo ($\mu\text{g/g}$)	0,09	0,20

A tabela 11 demonstra os resultados de outros estudos realizados no mesmo laboratório onde foi realizado este estudo.

Tabela 11: Tabela demonstrativa de resultados obtidos para a concentração de selênio nas unhas ($\mu\text{g/g}$) em grupos diferentes de participantes de alguns trabalhos realizados no mesmo laboratório da atual pesquisa.

Autores	Concentração de Se nas unhas ($\mu\text{g/g}$)
BOAVENTURA (1994) ¹	0,32
MEDEIROS (1997) ²	0,58
COUTINHO (1999) ³	0,72
SILVA (2002) ⁴	0,39
BEHR (2004) ⁵	0,51
BEHR(2004) ⁶	0,66

1. Média dos resultados obtidos em estudantes
2. Mediana dos resultados obtidos no grupo controle de sua pesquisa
3. Mediana dos resultados obtidos no grupo controle

4. Mediana dos resultados obtidos num grupo de mulheres idosas
5. Média dos resultados antes da suplementação com castanha-do-brasil
6. Média dos resultados depois da suplementação com castanha-do-brasil

A seguir, são apresentados gráficos com análise estatística por histograma e box-plot do resultado da análise da concentração de selênio nas unhas dos participantes antes e após a suplementação com castanha-do-brasil.

Figura 35- Demonstração da concentração de selênio nas unhas de 30 idosos (≥ 60 anos), antes da suplementação com castanha-do-brasil, não institucionalizados, submetidos à avaliação do estado nutricional relativo ao selênio, São Paulo, 2004.

Figura 36- Demonstração da concentração de selênio nas unhas de 30 idosos (≥ 60 anos), depois da suplementação com castanha-do-brasil, não institucionalizados, submetidos à avaliação do estado nutricional relativo ao selênio, São Paulo, 2004.

Figura 37- Distribuição da concentração de selênio nas unhas, antes da suplementação com castanha-do-brasil, de 30 idosos (≥ 60 anos), não institucionalizados, submetidos à avaliação do estado nutricional relativo ao selênio, São Paulo, 2004.

Figura 38- Distribuição da concentração de selênio nas unhas, depois da suplementação com castanha-do-brasil, de 30 idosos (≥ 60 anos), não institucionalizados, submetidos à avaliação do estado nutricional relativo ao selênio, São Paulo, 2004.

A utilização da concentração de Se nas unhas como um marcador do estado nutricional relativo ao selênio, deve ser mais bem pesquisado. Alguns autores relatam que a vantagem deste método, é por ele ser considerado um método não invasivo. Outra interferência existente no uso deste parâmetro, se dá ao fato de que pouco se sabe sobre a forma química de Se presente nas unhas e, se seria possível, e de qualquer modo, mobilizar o Se presente nas unhas para o uso no organismo, em caso de deficiência nutricional relativa a esse mineral (FAIRWEATHER-TAIT, 1997; GIBSON, 1989).

5.11. Correlação entre os resultados

De modo complementar, foi feita uma análise estatística de regressão tentando identificar a influência de certas variáveis sobre os resultados de concentração de Se no plasma e eritrócito. As variáveis vistas foram sexo, presença de hipertensão, realização de atividade física, obesidade e renda.

Não se observou influência de tais variáveis sobre a concentração de Se no plasma antes da suplementação, o que demonstra a Tabela 12. Para as concentrações de Se no plasma depois da suplementação e eritrócito antes e depois da suplementação também não foram identificadas influências dessas variáveis.

Tabela 12 - Teste de regressão – correlação entre o nível de selênio no plasma antes da suplementação e variáveis de interesse.

```
. reg plasma_1 sexo idade hiper ativ_d4 imc_d3 renda
```

Source	SS	df	MS	Number of obs =	34
Model	.008726123	6	.001454354	F(6, 27) =	1.46
Residual	.026845022	27	.00099426	Prob > F =	0.2283
Total	.035571145	33	.001077913	R-squared =	0.2453
				Adj R-squared =	0.0776
				Root MSE =	.03153

plasma_1	Coef.	t	P> t
sexo	-.0186012	-1.17	0.253
idade	-.0012137	-1.34	0.192
hiper	-.0084358	-0.71	0.486
ativ_d4	.0024732	0.22	0.827
imc_d3	-.0119421	-0.96	0.343
renda	-.0236326	-1.50	0.145
_cons	.1848083	3.13	0.004

Onde:

P-valor: Probabilidade de o parâmetro estimado ser estatisticamente igual a zero.

Em todos os casos, esta probabilidade é maior do que 10%, o que indica que se deve aceitar a hipótese de que os coeficientes listados acima são iguais a zero em todos os casos.

Com base na amostra disponível, não se observou influência estatística das variáveis sexo, presença de hipertensão, prática de atividade física, obesidade e renda. Porém estes resultados não permitem concluir que essas variáveis sejam de fato irrelevantes para a concentração de selênio no plasma e eritrócito, tendo em vista o limitado tamanho da amostra, que reduz a eficiência de testes estatísticos.

6. CONCLUSÕES

➤ O enriquecimento da dieta por meio de castanha-do-brasil, melhorou o estado nutricional dos idosos em relação ao selênio, considerando os parâmetros de selênio no plasma e eritrócito.

➤ A caracterização dos indivíduos mostrou que:

- a maioria dos participantes foram mulheres, não praticantes de atividade física, com renda de até três salários mínimos;
- o perfil de saúde dá ênfase a hipertensão. A maioria dos participantes não faz uso de bebida alcoólica e não é fumante;
- o índice de massa corpórea (IMC) dos participantes prevaleceu eutrófico em relação à obesidade.

➤ Em relação ao consumo alimentar:

- a média de consumo alimentar de proteínas e carboidratos atendeu os valores recomendados de EAR antes e depois da suplementação com castanha-do-brasil. Os valores consumidos de lipídeos não ultrapassaram 30% do valor energético total. Os valores de ingestão calórica não atenderam as recomendações.
- a média de consumo alimentar de selênio foi considerada inadequada em 38% e 0% antes e depois da suplementação com castanha-do-brasil ($p < 0,05$).

➤ Quanto aos parâmetros bioquímicos:

- o nível médio de selênio no plasma e eritrócito foi respectivamente maior 49% e 229% depois da suplementação com castanha-do-brasil ($p < 0,05$);
- não houve diferença estatística entre os níveis médios de selênio nas unhas antes e depois da suplementação com castanha-do-brasil.

➤ Não se observou influência estatística das variáveis sexo, presença de hipertensão, prática de atividade física, obesidade e renda sobre a

concentração de selênio no plasma e eritrócito antes e depois da suplementação com castanha-do-brasil.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALAEJOS, M.S. et al., Selenium and cancer: some nutritional aspects. **Nutrition**. V.16, p.376-383, 2000.

ALEGRIA, A.; BARBERÁ, R.; CLEMENTE, G.; FARRÉ, R.; GARCIA, M.J.; LARGADA, M.J. Selenium and glutathione peroxidase reference values in whole blood and plasma of a reference population living in Valencia, Spain. **J. Trace Elem. Med. Biol.**, Berlin, v.10, p. 223-228, 1996.

ALLARCÓN-NAVARRO, M. & LÓPEZ-MARTÍNEZ, M.C. Essentiality of selenium in the human body: relationship with different diseases. **The Science of the Total Environment**, Granada, v.249, p. 347-371, 2000.

BASKETT, C.K.; SPATE, J.S.; MORRIS, J.S.; ANDERSON, H.D.; MASON, M.M.; REAMS, C.T.P.; ZINN, K.R.; HILL, G.M.; DOWDY, R.P., Investigation of the appearance of supplemental enriched Se-76 using the human nail as a dietary monitor. **J. Rad. Nuclear Chem. Art.**, Budapest, v.195, n.1, p. 97-108, 1995.

BAYOUMY-EL, K. The preventive role of selenium on genetic damage and on cancer: review. **Mutat. Res.**, Amsterdam, v.475, p.123-39, 2001.

BOAVENTURA, G.T., COZZOLINO, S.M.F., Selenium bioavailability in the regional urban diet of Mato Grosso-Brazil. **Int J. Food Sci. Nut.**, Cambridge, v.43, p.223-229, 1993.

BOAVENTURA, G.T., Avaliação nutricional relativa ao selênio de estudantes da faculdade de Ciências Farmacêuticas da USP. São Paulo, 1994. 117p. (Tese de Doutorado – Faculdade de Ciências Farmacêuticas – Universidade de São Paulo)

BURK, R.F. Selenium in nutrition. **World Ver. Nutr. Diet.** London, v.30, p.88-106, 1998.

CAMARGO, A.B.; SAAD, P.M., A transição demográfica no Brasil e seu impacto na estrutura etária da população. In: Fundação Sistema de Análise de dados. **O idoso na grande São Paulo.** São Paulo, SEADE, p.9-39, 1990.

CINTRA, R.M.G.C. **Biodisponibilidade de selênio em dieta regional de São Paulo.** São Paulo, 1990. 74 p. (Dissertação de Mestrado em Ciências dos Alimentos – Faculdade de Ciências Farmacêuticas – USP).

CINTRA, R.M.G.C., COZZOLINO, S.M.F. Selenium bioavailability in a regional diet of São Paulo-Brazil. **Int. J. Food Sci. Nut.**, Cambridge, v.44, p.167-173, 1993.

CORDEIRO, M.B.C. **Adequação alimentar e avaliação do estado nutricional em relação ao zinco em grupo de idosos institucionalizados,** São Paulo, 92p, 1994. [Dissertação de mestrado – Faculdade de Ciências Farmacêuticas da USP]

COUTINHO, V.F., Caracterização do estado nutricional relativo ao selênio de praticantes de capoeira., São Paulo, 1999, 119p., (Dissertação de Mestrado – Faculdade de Ciências Farmacêuticas – Universidade de São Paulo).

COZZOLINO, S.M.F.; Biodisponibilidade de minerais. **Ver. Nutr. PUCCAMP,** Campinas, v.10, nº2, p. 87-98, 1997.

DAVIS, C.D.; UTHUS, E.O., Dietary selenite and azadeoxy-cytidine treatments affect dimethylhydrazine-induced aberrant crypt formation in rat

colon and DNA methylation in HT-29 cells. **J. Nutr.**, Bethesda, v. 132, p. 292-97, 2002.

DRI – Dietary Reference Intakes for Energy, Carbohydrate, Fiber, Fat, Fatty Acids, Cholesterol, Protein, and Amino Acids. Part 1, Summary and Chapters 1-9. Disponível em < <http://www.nap.edu/openbook>>, Summary, p. S-1-17, 2002.

ESTADOS UNIDOS. National research Council. Introduction to dietary reference intakes. In: **Dietary reference intakes for vitamin C, vitamin E, selenium and carotenoids.** Disponível em < <http://www.nap.edu/openbook>>, 2001, cap.1, p.21-34.

ESTADOS UNIDOS. National research Council. Selenium. In: **Dietary reference intakes for vitamin C, vitamin E, selenium and carotenoids.** Disponível em < <http://www.nap.edu/openbook>>, 2001, cap.7, p.284-324.

FAIRWEATHER – TAIT, S.J., Bioavailability of selenium. **Eur. J. Clin. Nutr.**, Basingstoke, v.51, p. S20-S23, 1997.

FÁVARO, D.I.T.; HUI, M.L.T.; MAIHARA, V.A.; ARMELIN, M.J.A.; VASCONCELLOS, M.B.; YUYAMA, L.K.; BOAVENTURA, G.T.; TRAMONTE, V.L.; COZZOLINO, S.M.F., Determination of various nutrientes and toxic elements in different Brazilian regional diets by nêutron activation analysis. **J. Trace Elem. Méd. Biol.**, Jena, v. 11, p. 129-36, 1997.

FLOHÉ, R.B. Tissue-specific functions of individual glutathione peroxidases. **Free Rad. Biol. Med.**, New York, v.27, p. 951-65, 1999.

FORNÉS, N. A. S. **Padrões alimentares e suas relações com os lipídios séricos em população da área metropolitana de São Paulo.** Tese (Doutorado em Saúde Pública – FSP – USP). São Paulo, 1998. 220p.

FOSTER, L. H., SUMAR, S. Selenium in health and disease: A review. Crit. Ver. In **Food Sci. And Nutr.**, London, v. 37, p. 211-228, 1997.

FOX, T.; FAIRWEATHER-TAIT, S.J., Selenium. In: HURRELL, R., ed. **The mineral fortification of foods.** Leatherhead: Leatherhead Publishing, 1999, v.2, cap. 5, p. 1-44.

FRISANCHO, A.R. New standards of weight body composition by frame size and height for assessment of nutritional status of adults and the elderly. **Am. J. Clin. Nutr.**, v.40, p. 808-19, 1984.

GALEAZI, M.A. M. , DOMENE, S. M. A. , SICHIERI, R. Estudo multicêntrico sobre consumo alimentar. **Cadernos de debate do NEPA/ UNICAMP.** Campinas, v. especial, 1997. 62 p.

GIBSON, R.S. Assessment of trace element status in humans. **Prog. Food Nutr. Sci.**, Oxford, v.13, p.67-111, 1989.

GONZAGA, I.B., **Avaliação nutricional relativa ao selênio em crianças com dieta enriquecida de castanha-do-brasil (*Bertholletia excelsa*, L.),** (Tese de doutorado – Faculdade de Ciências Farmacêuticas – USP), São Paulo, 2002.

HIROMOTO, G. et al. Collective dose and risk assessment from Brazil nut consumption. **Radiat. Prot. Dosim.**, Ashford, v.67, nº3, p.229-30, 1996.

HOLBEN, D.H.; SMITH, A.M. The diverse role of selenium within selenoproteins: a review. **J. Am. Diet. Assoc.**, Chicago, v.99, p. 836-43, 1999.

IBGE. **Anuário estatístico do Brasil – 1993**. Rio de Janeiro: Fundação Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, 1994.

IBGE. **Anuário estatístico do Brasil – 1998**. Rio de Janeiro: Fundação Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, 1999.

JACOB FILHO, W.; SOUZA, R.R. Anatomia e fisiologia do envelhecimento. In: CARVALHO FILHO, E.; PAPALÉO NETTO, M. **Geriatría – fundamentos, clínica e terapêutica**. São Paulo, ed. Atheneu, p. 31-40, 1994.

KÖHRLE, J. The trace element selenium and the thyroid gland. **Biochimie**, Paris, v.81, p.527-33, 1999.

KWITEROWICH JR, P. O. The effect of dietary fat, antioxidants, and pro-oxidants on blood lipids, lipoproteins, and atherosclerosis. **Journal of the American Dietetic Association**. V.97, n.7 (Supplement) p. S31-S41, jul. 1997.

LEVANDER, O.A. A global view of human selenium nutrition. **Annu. Rev. Nutr.**, Palo Alto, v.7, p. 227-50, 1987.

MAHAN, K. et al., **Alimentos, nutrição e dietoterapia**. Rio de Janeiro: Roca, 1998.

MARTINS, I.S.; VELÁSQUEZ-MELÉNDEZ, G.; CERVATO, A.M. Estado nutricional de grupamentos sociais da área metropolitana de São Paulo,

Brazil. **Cad. Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v.15, nº1, p. 71-78, jan-mar/1999.

MEDEIROS, C.S.C., **Efeito da suplementação de selênio em pacientes com síndrome do intestino curto submetidos à nutrição parenteral domiciliar**. São Paulo, 1997, 96p. (Dissertação de Mestrado – Faculdade de Ciências Farmacêuticas – Universidade de São Paulo).

MELO, M.S.O.N., **Antioxidantes naturais da castanha-do-brasil (*Bertholletia excelsa*, H.B.R.), da castanha-de-cajú (*Anacardium occidentale*, L.) e do fruto do dendezeiro (*Elaeis guineensis*, Jacq)**. São Paulo, 1989, 88p. (Dissertação de Mestrado – Faculdade de Ciências Farmacêuticas – Universidade de São Paulo).

MIHAILOVIC, M.B. et al., Blood and plasma selenium levels and GSH-Px activities in patients with arterial hypertension and chronic heart disease. **J. Environ. Pathol. Oncol.** V.17. p.258-9, 1998.

MONDINI, L., MONTEIRO, C. A. Mudanças no padrão de alimentação. In: MONTEIRO, C. A. (org). **Velhos e novos males de saúde no Brasil: a evolução do país e suas doenças**. São Paulo: Hucitec/ USP, 1995. 359 p., p. 79-89.

MONGET, A.L., et al., Micronutrient status in elderly people. **Internat. J. Vit. Nutr. Res.**, Paris, v. 66, p.71-76, 1996.

MONTEIRO, C. A., CONDE, W. L., POPKIN, B. M. A tendência secular da obesidade segundo extratos sociais: nordeste e sudeste do Brasil, 1975-1989-1997. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia**, v.43, n.3, 1999.

MORIGUTTI, J.C.; LUCIF JR, N.; FERRIOLLI, E., **Nutrição no Idoso**. In DUTRA DE OLIVEIRA, J.E.; MARCHINI, J.S., **Ciências Nutricionais**, São Paulo, Sarvier, 1998.

MUNTAU, A.C.; STREITER, M.; KAPPLER, M.; RÖSCHINGER, W.; SCHIMID, I.; REHNERT, A.; SCHARAMEL, P.; ROSCHER, A.A. Age-related reference values for serum selenium concentrations in infants and children. **Clin. Chem.**, Washington DC, v.48, nº3, p. 555-560, 2002.

NAJAS, M.S., **Avaliação do estado nutricional de idosos a partir da utilização da medida do comprimento da perna – Knee Height” – como método preditor da estrutura**, São Paulo, 1995. (Dissertação de mestrado. Departamento de Medicina Preventiva – Universidade Federal de São Paulo).

NAJAS, M.S. et al. Padrão Alimentar de idosos de diferentes estratos sócio-econômicos residentes em localidade urbana da região sudeste. **Revista de Saúde Pública**, São Paulo, 28(3): 187-191, 1994.

NÉVE, J. Physiological and nutritional importance of selenium. **Experientia**, Basel, v.47, p. 187-93, 1991.

NEVES, C.A. A. Castanheira do Pará. **Rev. Agric.**, Piracicaba, v. 13, p. 463-76, 1938.

NRC (National Research Council) – **Dietary Intakes: for Vitamin C, Vitamin E, Selenium and Carotenoids**. Washington, D.C., National Academy Press, 2000, 506p.

OLDFIELD, J. E., **Selenium word atlas**. Grimbergen: SDTA, 1999. 83p.

OMS. **Elementos traço na nutrição e saúde humanas**. 1 ed. São Paulo: Roca, 1998.

ORTUÑO, J.; ROS, G.; PERIAGO, M.J.; MARTINEZ, C.; LOPEZ, G.; RODRIGO, J. Importância nutricional Del selênio. **Arc. Latinoam. Nutr.**, Caracas, v. 47, n.1, p.6-13, 1997.

OVASKAINEN, M., et al., Toenail selenium as na indicator of selenium intake among middle-aged men in na area low soil selenium. **Am. J. Clin. Nutr.**, Bethesda, v.57, p. 662-665, 1993.

PAPALEO NETTO, M., **Geriatrics: fundamentos, clínica e terapêutica**, São Paulo, Atheneu, 2000.

PECHNIK, E.; BORGES, P.; SIQUEIRA, R.. Estudo sobre a castanha-do-pará. **Arq. Bras. Nutr.**, Rio de Janeiro, v.7, p. 7-42, 1950.

PERISSINOTTO, E.; PISENT, C.; SERGI, G.; GRIGOLETTO, F.; ENZI, G. Anthropometric measurements in the elderly: age and gender differences. **British Journal of Nutrition**, Padua, v. 87, p. 177-186, 2002.

PHILIPPI, S. T.; SZARFAC, S.C.; LATTERZA, A.R. **Virtual nutri software**. São Paulo: Departamento de Nutrição da Faculdade de Saúde Pública – USP, 1996.[1 CD-ROM windows 1.0]

PLEBAN, P.A.; MUNYANI, A.; BEACHUM, J. Determination of selenium concentration and glutathione peroxidase activity in plasma and erythrocytes. **Clin. Chem.**, v.28, nº2, p. 311-316, 1982.

REILLY, C. **Selenium in food and health**. Condon: Blackie Academic and Professional, 1996. 338 p.

ROMERO, D.C.; BLANCO, L.F.; SANCHEZ, P.H.; RODRIGUEZ, E.; MAJEM, L., Serum selenio concentration in a representative sample of the canarian population. **Sci. Total Environ.**, Shannon, v.269, p.65-73, 2001.

ROTRUCK, J.T.; POPE, A.L.; GANTHER, H.E. et al. Selenium biochemical role as a component of glutathione peroxidase. **Science.**, v.179, p. 558-90, 1973.

RUSSEL, R.M. New views on the RDAs for olders adults. **J. Am. Diet. Assoc.**, Boston, v.97, p.515-518, 1997.

SABATÉ, J., Nut consupction, vegetarian dietas, ischemic heart disease risk, and all-cause mortality: evidence from epidemiologic studies. **Am. J. Clin. Nutr.**, Loma Linda, v. 70, n.3, p. 500S-503S, 1999.

SCHLIENGER, J.L. et al., Nutrition of elderly: A Challenger between Facts and Needs. **Hormone Research**, Geneva, v. 43, p. 46-51, 1995.

SCHMUCK, A. et al. Analyzed dietary intakes, plasma concentration of zinc, copper, and selenium, and related antioxidant enzyme activities in hospitalized elderly women. **J. Am. Coll Nutr.**, v. 15, p. 462-468, 1996.

SCHOUERI JR, R.; RAMOS, L.R.; PAPALEO NETTO, M. Crescimento Populacional: aspectos demográficos e sociais. In CARVALHO FILHO, E.T., 2000.

SHILS, M.E.; OLSON, J.A.; SHIKE, M. (eds.) **Modern nutrition in health and disease**. 9 th. Baltimore: Williams & Wilkins, 1998. V.1, cap.12, p.265-76.

SILVA, V.L., **Avaliação do estado Nutricional relativo ao selênio de mulheres idosas não institucionalizadas**. Dissertação de mestrado – Faculdade de Ciências Farmacêuticas – USP), São Paulo, 2002.

SUNDE, R. **A handbook of nutritionally essential mineral elements**. New York: Dekker, 1997. P.493-557.

SWANSON, C.A. et al. Selenium intake, age, gender, and smoking in relation to indices of selenium status of adults residing in a seleniferous area. **Am. J. Clin. Nutr.**, New York, v.52, p.858-862, 1990.

TAKAHASHI, K.; AVISSAR, J.W.; COHEN, H. Purification and characterization of human plasma glutathione peroxidase: a selenoglycoprotein distinct from the known cellular enzyme. **Arch. Biochem. Biophys.**, Orlando, v.256, p.677-86, 1986.

TRIPP, F. The use of dietary supplements in the elderly: current issues and recommendations. **J. Am. Diet Assoc.**, v.97, suppl.2, p.181-183, 1997.

TUDISCO, E.S. et al., Inquérito Alimentar de idosos em grupo da população. In: Congresso Nacional da Sociedade Brasileira de Alimentação e Nutrição, São Paulo, 1987. **Programa e Resumos** – São Paulo, SBAN, 1987, p. 103

VAN DAEL, P.; DEELSTRA, H. Selenium; Internet. **J. Vit. Nutr. Res.** v.63, nº4, p. 312-16, 1993.

VERAS, R.P. et al. **Terceira Idade: um envelhecimento digno para o cidadão do futuro**. Rio de Janeiro: Belume-Dumará/ UERJ, 1995. 110 p.

VERSIECK, J and CORNELIS, R., Trace elements in human plasma and serum, Florida: **CRC Press, Inc.** Boca Raton, 1989.

VESLASQUÉZ-MELÉNDEZ, G. et al., Consumo Alimentar de Vitaminas e Minerais em adultos residentes em área metropolitana de São Paulo, Brasil. **Revista de Saúde Pública**, São Paulo, 31(2): 157-162, 1997.

WHO. **Diet, nutrition and the prevention of chronic diseases.** Technical Report Series 797. Geneva, 1990.

WHO. ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. **Guidelines for drinking water quality**, Geneva, 1993, v.1, p. 54

WHO. ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. **Guidelines for drinking water quality**, Geneva, 1996, v.2, p. 328-338

WHO. Physical status: the use and interpretation of anthropometry. **Clin Chem.**, v.28, n.3, p. 475-480, 1995.

WOOD, R. J., et al. Mineral requeriments of elderly people. **Am. J. Clin. Nutr.**, Boston, v.62, n.493-505, 1995.

WOOD, L.G.; FITZGERALD, D.A.; LEE, A.K. ; GARG, M.L., Improved antioxidant and fatty acid status of patients with cystic fibrosis after antioxidant supplementation is linked to improved lung function. **Am. J. Clin. Nutr.**, Australia, v.77, n.1, P.150-159, 2003.

WYATT, C.J.; MELÉNDEZ, J.M.; ACUNÁ, N. & RASCON, A. Selenium (Se) in Foods in Northern México, Their Contribution to the Daily Se Intake and The Relationship of Se Plasma Levels and Glutathione Peroxidase Activity. **Nutrition Research**, v.16, nº6, p. 949-960, USA, 1996.

YANG, G.Q.; WANG, S.Z.; ZHOU, R.H.; SUN, S.Z. Endemic selenium intoxication of humans in China. **Am. J. Clin. Nutr.**, New York, v.37, p. 872-81, 1983.

ANEXO 1 – Aprovação do Comitê de Ética da FCF-USP

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

Faculdade de Ciências Farmacêuticas

Comitê de Ética em Pesquisa - CEP

Ofício CEP nº 33

São Paulo, 05 de maio de 2003.

Ilmo(a) Sr(a).
Carla Souza Behr

O Comitê de Ética em Pesquisa da FCF/USP, em reunião realizada em 28 de abril p.passado, **aprovou** o projeto "Efeito de uma dieta enriquecida com castanha-do-brasil (*Bertholletia excelsa*, L.) no estado nutricional relativo ao selênio de idosos não institucionalizados", apresentado por Vossa Senhoria, devendo, apenas, serem providenciados:

1. Declaração de uso específico do material.
2. Declaração de tornar público os resultados da pesquisa.
3. Serem alterados os dizeres do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, no item III, para fácil entendimento do sujeito da pesquisa.

Recomendamos que o local da coleta de sangue dos indivíduos da pesquisa seja adequado.

Lembramos que após a execução de 50% do cronograma do projeto, deverá ser apresentado um relatório parcial, de acordo com o Artigo 18 – item C, da Portaria FCF-111/97.

Atenciosamente,

Prof. Tit. Dulcinéia Saes Parra Abdalla
Coordenadora do Comitê de Ética em Pesquisa da FCF/USP

Orientador: Prof. Silvia Maria Franciscato Cozzolino
FBA

ANEXO 2

PESQUISA

“Efeito de uma dieta enriquecida com castanha-do-brasil (*Bertholletia excelsa*, L.) no estado nutricional relativo ao selênio de idosos não institucionalizados.”

O selênio é um mineral que está presente no nosso organismo fazendo parte de enzimas que agem como antioxidantes contra os radicais livres, combatendo assim o envelhecimento.

Além da determinação de selênio, serão realizadas uma avaliação do consumo alimentar e composição corporal.

A pesquisa constará de:

- entrevista
- medidas antropométricas (peso e altura)
- duas coletas de sangue (10 mL), uma antes e outra após 3 meses de suplementação com castanha-do-brasil.
- duas coletas de unhas, uma antes e outra após 3 meses de suplementação.
- Preenchimento de questionário alimentar durante 3 dias (anotar todos os alimentos ingeridos nestes dias)

O estudo não trará nenhum risco aos participantes. Todos os resultados serão fornecidos aos participantes.

Requisitos para participar da pesquisa:

- idade acima ou igual a 60 anos;
- não estar tomando qualquer suplemento de vitaminas e minerais;
- não possuir patologia como diabetes, artrite reumatóide e/ ou câncer.

A pesquisa será realizada:

- parte experimental: no Laboratório de Nutrição e Minerais do Departamento de Alimentos e Nutrição Experimental da USP.
- coleta de sangue: Fundação Julita
- coleta de unha: na casa do participante.

Quaisquer informações adicionais – contatar Carla Tel: 3091-3625

ANEXO 3**PERFIL DO PARTICIPANTE**
DADOS PESSOAIS, ANTROPOMÉTRICOS, SOCIAIS E DE SAÚDE

Data da entrevista: _____

Nome: _____

Documento de identidade nº: _____

Sexo: (   ) M   (   ) F

Data do nascimento: _____ Natural de: _____

Endereço: _____

Bairro: _____ Cidade: _____

Cep: _____ Tel: _____

Estado civil: _____

Peso (kg): _____ Estatura (m): _____ IMC (kg/m²): _____

Renda mensal: _____

Pratica alguma atividade física? Qual?: _____

Frequência/ semana: _____

Faz uso de bebida alcoólica? _____ Fuma? _____

Patologias atuais: _____

Fármacos em uso:

Medicamento	Frequência e Concentração

ANEXO 4**TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO**

Eu, _____
aceito livremente participar do estudo “Efeito de uma dieta enriquecida com castanha-do-brasil (*Bertholletia excelsa*, L.) no estado nutricional relativo ao selênio de idosos não institucionalizados”, sob a responsabilidade dos seguintes pesquisadores, Silvia Maria Franciscato Cozzolino, docente da Faculdade de Ciências Farmacêuticas (FCF) da Universidade de São Paulo (USP) e Carla Souza Behr, mestranda do programa de Pós – Graduação em Nutrição Humana Aplicada – PRONUT.

Propósito do estudo: Avaliar o estado nutricional relativo ao selênio em idosos não institucionalizados antes e após suplementação com castanha-do-brasil.

Participação: Ao concordar em participar, deverei estar à disposição para realização da entrevista, onde serão feitas perguntas a respeito de dados gerais, medidas antropométricas de peso e estatura, coleta de sangue inicial (10 mL) e coleta das unhas dos pés e mãos após suplementação. Estes procedimentos serão realizados com a periodicidade requerida.

Riscos: Este estudo não trará nenhum risco para minha integridade física ou moral.

Benefícios: as informações obtidas com esse estudo poderão ser úteis cientificamente e de ajuda para todos.

Privacidade: a identificação dos participantes será confidencial, sendo que os dados científicos resultantes do presente estudo poderão ser divulgados em congressos e publicados em revistas científicas. Minha participação é, portanto, voluntária, podendo desistir a qualquer momento do estudo, sem qualquer consequência para mim.

Questões éticas: Cada participante terá acesso ao número de telefone da pesquisadora, o qual poderá ser utilizado para esclarecimentos de dúvidas ou reclamações.

Assinatura do participante do estudo

Assinatura do pesquisador

ANEXO 5

INQUÉRITO DE CONSUMO ALIMENTAR – REGISTRO ALIMENTAR

Nome: _____

Data: _____ ( ) Segunda a sexta-feira ( ) Fim de semana

Café da manhã:

Horário: _____

ALIMENTO	QUANTIDADE PADRÃO	MARCA

Lanche da manhã:

Horário: _____

ALIMENTO	QUANTIDADE PADRÃO	MARCA

Almoço:

Horário: _____

ALIMENTO	QUANTIDADE PADRÃO	MARCA

Lanche da tarde:

Horário: _____

ALIMENTO	QUANTIDADE PADRÃO	MARCA

Horário: _____

[illegible]

Horário: _____

ALIMENTO	QUANTIDADE PADRÃO	MARCA

Quantidade de copos (250mL) de água ingerida: