

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos
Área de Nutrição Experimental

Polimorfismo Pro198Leu no gene que codifica para a glutathione peroxidase 1 e sua relação com o estado nutricional relativo ao selênio de uma população adulta residente no município de Fortaleza, Ceará

Larissa Bezerra Santos

Dissertação para obtenção do grau de
MESTRE

Orientadora:
Profª Tit. Silvia Maria Franciscato Cozzolino

São Paulo
2013

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos
Área de Nutrição Experimental

Polimorfismo Pro198Leu no gene que codifica para a glutathione peroxidase 1 e sua relação com o estado nutricional relativo ao selênio de uma população adulta residente no município de Fortaleza, Ceará

Larissa Bezerra Santos

Dissertação para obtenção do grau de
MESTRE

Orientadora:
Prof^a Tit. Silvia Maria Franciscato Cozzolino

São Paulo
2013

Ficha Catalográfica

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

Santos, Larissa Bezerra
S237p Polimorfismo Pro198Leu no gene que codifica para a glutathione peroxidase 1 e sua relação com o estado nutricional relativo ao selênio de uma população adulta residente no município de Fortaleza, Ceará / Larissa Bezerra Santos. -- São Paulo, 2013.
93p.

Dissertação (mestrado) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo. Departamento de Alimentos e Nutrição Experimental.

Orientador: Cozzolino, Silvia Maria Franciscato

1. Bioquímica dos alimentos 2. Nutrição experimental : Ciências dos alimentos I. T. II. Cozzolino, Silvia Maria Franciscato, orientador.

641.1 CDD

Larissa Bezerra Santos

Polimorfismo Pro198Leu no gene que codifica para a glutathione peroxidase 1 e sua relação com o estado nutricional relativo ao selênio de uma população adulta residente no município de Fortaleza, Ceará

Comissão Julgadora
da
Dissertação para obtenção do grau de Mestre

Prof^a Titular Silva Maria Franciscato Cozzolino
Orientadora/Presidente

1º Examinador

2º Examinador

São Paulo, _____ de dezembro de 2013.

A Deus e a Nossa Senhora de Fátima,
pelas bênçãos em minha vida.

Aos meus pais, **Haydée e José**,
por seu amor incondicional.

AGRADECIMENTOS

A **Deus**, por conceder-me saúde, sabedoria, paciência e força para seguir minha caminhada, superando todos os obstáculos. À Nossa Senhora de Fátima, de quem sou devota, por estar sempre iluminando cada passo meu.

A minha mãe, **Haydée**, a quem devo tudo o que hoje sou, pela educação base em minha vida e pela sua incrível força em todos os momentos, sendo sempre meu alicerce e o meu porto seguro.

Ao meu pai, **José**, pela atenção, admiração, amor e carinho, sem falar no imprescindível apoio financeiro para a minha temporada em São Paulo.

Ao meu namorado, **Pedro Ernesto**, pelo amor em todos os momentos, por seus incentivos e pelo seu carinhoso cuidado.

A minha orientadora, Prof^a **Silvia Cozzolino**, exemplo de profissional e ser humano, pela confiança em mim depositada. A sua serenidade ao tratar de qualquer percalço demonstra todo o carinho e atenção que tem por seus alunos. Sinto-me honrada por fazer parte do seu grupo de *meninhas*. A ela registro minha imensa gratidão pela oportunidade.

A minha querida *fessora*, Prof^a **Carla Soraya Maia**, por ter-me iniciado na vida científica, acolhendo-me como sua pupila desde a graduação. A sua elevada capacidade técnica como professora e pesquisadora e o seu espírito humanístico que a qualifica como um ser humano especial sempre me inspiraram.

À amiga **Isabela Saraiva**, que me presenteou com o seu convívio diário e compartilhou comigo de risadas a angústias científicas. Agradeço também aos seus pais, Prof^o Paulo César de Almeida e Nádia, pela gentileza que me dispensaram.

À amiga **Christielle Félix**, por ter estado presente, com sua sincera solicitude, nesta importante etapa para a construção de nosso futuro como pesquisadoras.

À amiga **Liliane Pires**, exemplo de humildade, humanidade e generosidade, pela amizade, carinho e preocupação. Obrigada pela infindável presteza e por todo o conhecimento transmitido de forma tão atenciosa. Às suas pupilas, também iluminadas, **Luciane Luca, Leila Hashimoto e Verônica Bandeira**, pelo inestimável auxílio.

Às companheiras do Laboratório de Nutrição-Minerais, pelo agradável convívio, entreajuda e contribuição ímpar de cada uma, **Ariana Rocha, Bárbara Cardoso, Bruna Reis, Graziela Biude, Janaína Lombello, Kaluce Almondes e Kátia Callou**.

Ao amigo **Alexandre Pimentel**, técnico do Laboratório de Nutrição-Minerais, pela constante disposição em ensinar.

Aos membros da banca do Exame de Qualificação, prof^o **Thomas Ong, Cristiane Cominetti e Aderuza Horst**, pelas importantes contribuições.

Aos funcionários, técnicos e professores do Departamento de Alimentos e Nutrição Experimental, por todo o subsídio proporcionado. Em especial, à equipe da secretaria, **Edílson, Mônica, Cleo e Roberta** e à querida **Lourdinha**.

À equipe do **Laboratório de Análise de Alimentos da UECE**, entre bolsistas, voluntárias e mestrandas, pela colaboração na coleta de dados dos participantes.

À técnica de enfermagem **Lúcia**, que realizou a colheita de sangue dos participantes, pelo seu extremo esforço em adequar seus horários para estar disponível aos dias da pesquisa.

À Prof^a **Maria Izabel Guedes**, pelo espaço cedido no Laboratório de Bioquímica Humana da UECE.

A cada um dos **voluntários** que participaram do estudo, pela sua disponibilidade em contribuir com a ciência, principalmente àqueles que ainda ajudaram na divulgação da pesquisa, convidando amigos e colegas.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – **CNPq**, pelo auxílio como bolsista.

“Entre a raiz e o fruto, há o tempo.”

Carlos Drummond de Andrade

SANTOS, L. B. **Polimorfismo Pro198Leu no gene que codifica para a glutathione peroxidase 1 e sua relação com o estado nutricional relativo ao selênio de uma população adulta residente no município de Fortaleza, Ceará.** 2013. 93 f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2013.

RESUMO

O selênio (Se), mineral traço essencial para o ser humano, exerce sua função no organismo por meio de sua participação nas selenoproteínas, dentre as quais destacam-se as glutathione peroxidase (GPx), importantes no sistema de defesa antioxidante. São conhecidas sete isoformas da GPx, sendo a GPx 1 (citoplasmática) a mais abundante. Como a atividade dessa enzima encontra-se fortemente correlacionada com a concentração sanguínea de Se, este parâmetro é normalmente utilizado como indicador do balanço metabólico do mineral. A concentração de Se nos alimentos depende do local onde foram cultivados e reflete diretamente o teor do mineral no solo, sendo os alimentos da região Norte e Nordeste mais ricos nesse nutriente quando comparados às demais regiões brasileiras. O consumo inadequado de Se provoca uma diminuição da atividade dessa enzima, o que por sua vez pode afetar a proteção antioxidante. Além disso, estudos vêm mostrando que o polimorfismo Pro198Leu no gene da GPx1 também pode diminuir a atividade da GPx. O presente estudo se propôs a verificar a relação entre esse polimorfismo e o estado nutricional relativo ao selênio de uma população adulta residente no município de Fortaleza/Ceará. A população do estudo foi constituída por 176 indivíduos (79 homens e 97 mulheres), com média de idade de $30,4 \pm 8,9$ anos. Foram realizadas a avaliação da composição corporal por antropometria e a avaliação do consumo alimentar, por meio de três recordatórios de 24h. Os biomarcadores para avaliação do estado nutricional dos indivíduos quanto ao selênio foram: a concentração de Se plasmático e eritrocitário e a atividade da GPx total no eritrócito. Também foi determinado o polimorfismo Pro198Leu no gene que codifica para a GPx 1 por meio de PCR em Tempo Real. Foram encontradas concentrações médias de $62,6 \mu\text{g/L}$ para Se plasmático e de $101,5 \mu\text{g/L}$ para Se eritrocitário, não sendo observada correlação entre os dois. A média de ingestão de selênio foi de $76,88 \mu\text{g/dia}$, apresentando correlação positiva com o consumo de energia e proteína. Separando por gênero, encontrou-se que as médias de Se plasmático e de Se ingerido dos homens foram significativamente maiores que as das mulheres ($p < 0,05$). A média da atividade da GPx foi de $38,6 \text{ U/g Hb}$. Para o polimorfismo Pro198Leu no gene que codifica para a GPx 1, foram encontrados 96 (54,5%) indivíduos com genótipo selvagem Pro/Pro, 67 (38,1%) indivíduos Pro/Leu e 13 (7,4%) indivíduos Leu/Leu. A frequência encontrada estava em equilíbrio de Hardy-Weinberg. Não foram encontradas diferenças estatísticas significativas nas concentrações de selênio entre os grupos de acordo com o genótipo, no entanto, para a atividade da GPx, houve diferença entre o grupo Pro/Pro e Pro/Leu ($p < 0,05$). No grupo Pro/Pro, foi encontrada correlação positiva entre a concentração de selênio eritrocitário e a atividade eritrocitária total da GPx ($p < 0,05$). Desta forma, podemos concluir que o estado nutricional da população estudada estava adequado com relação ao selênio e que o polimorfismo Pro198Leu apresentou influência sobre a atividade da GPx, que apresentou-se reduzida nos indivíduos que apresentaram alelo variante em seu genótipo.

Palavras chave: Selênio, Glutathione peroxidase 1, Polimorfismo Pro198Leu

SANTOS, L. B. **Pro198Leu polymorphism at glutathione peroxidase 1 gene and its relationship to the nutritional status of selenium in an adult population of Fortaleza, Ceará, Brazil.** 2013. 93 p. Major's Thesis – Faculty of Pharmaceutical Science, University of Sao Paulo, Sao Paulo, 2013.

ABSTRACT

Selenium (Se) is an essential trace mineral for humans which exerts its function in the body in selenoproteins, among which we highlight the glutathione peroxidase (GPx), important in the antioxidant defense system. There are seven known GPx isoforms and the GPx 1 (cytosolic) is the most abundant. As the activity of this enzyme is strongly correlated with selenium blood concentration this parameter is usually used as an indicator of the mineral metabolic balance. Selenium concentration in food depends on the location where they were grown and directly reflects the soil mineral content. Food in the North and Northeast are richer in selenium when compared to other Brazilian regions. Inadequate consumption of Se causes a decrease in GPx activity, what affects the antioxidant protection. Furthermore, studies have shown that the Pro198Leu polymorphism at GPx1 gene of can also decrease the activity of GPx. Our study aimed to investigate the relationship between this polymorphism and nutritional selenium status in an adult population living in Fortaleza/Ceará/Brazil. The study population consisted of 176 individuals (79 men and 97 women) with a mean age of 30.4 ± 8.9 years. The body composition was assessed by anthropometry and the food intake assessment was done using three 24-hour records. The selenium Se concentration was measured in plasma and erythrocyte and GPx activity was measured in erythrocytes. The Pro198Leu polymorphism at GPx 1 gene was determined by Real Time PCR. We found concentrations of $62.6 \mu\text{g/L}$ for Se plasma and $101.5 \mu\text{g/L}$ for erythrocyte. There was no correlation observed between these two markers. The average selenium intake was $76.88 \mu\text{g/day}$ and it showed positively related to the energy and protein consumption. Separating by gender, men selenium plasma concentration and selenium consumption were significantly higher than for women ($p < 0.05$). The GPx activity was 38.6 U/g Hb . The Pro198Leu polymorphism at GPx 1 gene frequency were 96 (54.5%) subjects with Pro/Pro, 67 (38.1%) subjects Pro/Leu and 13 (7.4%) individuals Leu/Leu. The rate found was in Hardy -Weinberg equilibrium. There were no statistically significant differences in selenium concentrations between groups according to the genotype. However, for GPx activity we found difference between the group Pro/Pro and Pro/Leu ($p < 0.05$). We also found positive correlation between Se erythrocyte concentration and GPx activity in Pro/Pro group ($p < 0.05$). Thus, we conclude that the selenium nutritional status of the population studied was adequate and that Pro198Leu polymorphism showed influence on the activity of GPx, which was lower in individuals with the variant allele in their genotype.

Keywords: selenium, glutathione peroxidase 1, Pro198Leu polymorphism

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.	Características socioeconômicas dos participantes. São Paulo, 2013.	37
Tabela 2.	Hábitos de vida dos participantes. São Paulo, 2013.	40
Tabela 3.	Dados antropométricos dos participantes. São Paulo, 2013.	42
Tabela 4.	Valores de ingestão de energia, macronutrientes e selênio na população estudada. São Paulo, 2013.	45
Tabela 5.	Concentrações de selênio (Se) plasmático e eritrocitário e atividade eritrocitária total da GPx. São Paulo, 2013.	47
Tabela 6.	Distribuição do SNP Pro198Leu (rs1050450) no gene que codifica para a GPx 1 nos participantes do estudo. São Paulo, 2013.	55
Tabela 7.	Comparação das frequências genótípicas para o SNP Pro198Leu (rs1050450) no gene que codifica para a GPx 1 encontradas neste estudo com as encontradas por estudos em populações de São Paulo. São Paulo, 2013.	57
Tabela 8.	Concentrações de selênio (Se) plasmático e eritrocitário e atividade eritrocitária total da GPx, de acordo com o genótipo para o polimorfismo Pro198Leu (rs1050450) no gene que codifica para a GPx 1. São Paulo, 2013.	58
Tabela 9.	Concentrações de selênio (Se) plasmático e eritrocitário e atividade eritrocitária total da GPx nos grupos selvagem e com presença do alelo variante para o polimorfismo Pro198Leu (rs1050450) no gene que codifica para a GPx 1. São Paulo, 2013.	59

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.	Fluxograma de atividades do estudo. São Paulo, 2013	30
Figura 2.	Escolaridade dos participantes. São Paulo, 2013.	38
Figura 3.	Etnia relatada pelos participantes. São Paulo, 2013.	39
Figura 4.	Histórico de doenças nas famílias dos participantes. São Paulo, 2013.	41
Figura 5.	Distribuição dos participantes nas faixas de IMC. São Paulo, 2013.	42
Figura 6.	Distribuição dos participantes nas faixas de IMC, de acordo com o gênero. São Paulo, 2013.	43
Figura 7.	Distribuição dos valores de circunferência da cintura para mulheres e homens. São Paulo, 2013.	43
Figura 8.	Distribuição da concentração de selênio plasmático dos participantes de acordo com valores de referência de Vandael & Deelstra (1993). São Paulo, 2013.	48
Figura 9.	Distribuição da concentração de selênio plasmático dos participantes de acordo com os pontos de corte propostos por Thomson (2004). São Paulo, 2013.	49
Figura 10.	Concentração de selênio eritrocitário dos participantes. São Paulo, 2013.	51
Figura 11.	Atividade eritrocitária total da GPx dos participantes. São Paulo, 2013.	53
Figura 12.	Correlação entre a atividade eritrocitária total da GPx e a concentração de selênio nos eritrócitos, de acordo com os genótipos para o polimorfismo Pro198Leu (rs1050450) no gene que codifica para a GPx 1. São Paulo, 2013.	59

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CC	Circunferência da Cintura
CuZn-SOD	Superóxido Dismutase Cobre e Zinco Dependente
DNA	<i>Deoxyribonucleic Acid</i>
DRIs	<i>Dietary Reference Intakes</i>
EAR	<i>Estimated Average Requirement</i>
ERO	Espécie Reativa de Oxigênio
GR	Glutaciona Redutase
GSH	Glutaciona Reduzida
GPx	Glutaciona Peroxidase
HGQTAAS	<i>Hydride Generation Atomic Absorption Spectroscopy</i>
H₂O₂	Peróxido de Hidrogênio
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IMC	Índice de Massa Corporal
Mn-SOD	Superóxido Dismutase Manganês Dependente
NADH⁺	Dinucleotidio de Nicotinamida Adenina Oxidado
NADPH	Dinucleotidio de Nicotinamida Adenina Reduzido
O₂⁻	Ânion Superóxido
P.A	Pureza Analítica
RDA	<i>Recommended Dietary Allowance</i>
RPM	Rotações por minuto
Se	Selênio
SNP	<i>Single Nucleotide Polymorphism</i>
STR	<i>Simple Tandem Repeats</i>
PCR	<i>Polymerase Chain Reaction</i>
UL	<i>Upper Limit</i>
VET	Valor Energético Total
VSTR	<i>Variable Number of Tandem Repeats</i>

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	15
2	REVISÃO DA LITERATURA.....	18
1.1	2.1 O selênio no solo e nos alimentos.....	18
2.1	2.2 O selênio e a glutathione peroxidase	20
3.1	2.3 SNP Pro198Leu (rs1050450) no gene da GPx 1	22
3	OBJETIVOS.....	27
3.1	Geral.....	27
3.2	Específicos	27
4	CASUÍSTICA E MÉTODOS.....	28
4.1	População.....	28
4.2	Avaliação antropométrica	30
4.3	Avaliação da ingestão alimentar	30
4.4	Determinação bioquímica da concentração de selênio	31
4.4.1	Lavagem de material para análise de mineral	31
4.4.2	Reagentes	31
4.4.3	Controle da metodologia da análise de selênio	31
4.4.4	Colheita de material biológico.....	31
4.4.5	Análise de selênio.....	32
4.5	Determinação da atividade enzimática da GPx.....	33
4.6	Determinação do SNP Pro198Leu (rs1050450) no gene da GPx 1	33
4.7	Análise estatística.....	34
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	36
5.1	Caracterização da população do estudo	36
5.1.1	Características socioeconômicas.....	36
5.1.2	Hábitos de vida.....	39
5.1.3	Doenças na família	40
5.2	Características antropométricas.....	41
5.3	Avaliação da ingestão alimentar	44
5.4	Biomarcadores do estado nutricional relativo ao selênio	46
5.5	SNP Pro198Leu (rs1050450) no gene da GPx1	54
6	CONCLUSÃO	61
7	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	62

1 INTRODUÇÃO

O selênio (Se), mineral traço essencial para o ser humano, foi descoberto em 1817 pelo químico sueco Jöns Jacob Berzelius e apresenta atividade como parte de proteínas chamadas selenoproteínas, sendo-lhe atribuídas várias funções, como redução de peróxidos formados nas reações de radicais livres, ação na redução do risco de câncer, modulação do sistema imunológico, participação no metabolismo dos hormônios da glândula tireoide, ação no sistema reprodutor, destoxificação do organismo contra metais pesados e xenobióticos, estabilização do metabolismo do ácido araquidônico e redução do risco de doenças cardiovasculares, pelo favorecimento da síntese de metionina a partir da homocisteína (BOOSALIS, 2008; GONZAGA; MARTENS; COZZOLINO, 2012; HUANG; ROSE; HOFFMANN, 2012; MISTRY et al., 2012; VIVANCO; MENGE; BARRIGA, 2010).

A primeira recomendação de ingestão de selênio para o ser humano foi estabelecida em 1980 (*Recommended Dietary Allowances – RDA/National Research Council/Food and Nutrition Board*), sendo modificada posteriormente em 1989 e 2000. Após a instituição das DRIs (*Dietary Reference Intakes*), as recomendações foram fixadas para indivíduos de ambos os gêneros com idade acima de 19 anos em 45 µg/dia para EAR (*Estimated Average Requirement*) e 55 µg/dia para RDA. O valor tolerável máximo de ingestão (*Upper Limit - UL*) é de 400 µg/dia (IOM, 2000).

A deficiência subclínica de selênio manifesta-se em populações com o aumento do risco para disfunções da tireoide, de câncer, de doenças cardiovasculares, de doenças virais e de várias condições inflamatórias. Duas doenças estão relacionadas com a deficiência grave em selênio, como a de Keshan e de Kashin-Beck. A doença de Keshan trata-se de uma cardiomiopatia reversível, endêmica de áreas rurais com baixas concentrações de selênio da China, caracterizada por necrose miocárdica, muitas vezes associada com infiltrados inflamatórios e calcificação. Já a doença de Kashin-Beck é uma osteoartropatia que se manifesta com inchaço das articulações, com encurtamento dos dedos das mãos e dos pés e até nanismo, em casos mais graves (BECK; LEVANDER; HANDY, 2003; LYONS; STANGOULIS; GRAHAM, 2003).

Por outro lado, a exposição a altas quantidades de selênio, muito acima da recomendação para humanos, resulta em um estado denominado de selenose, o qual é caracterizado pela perda de unhas e cabelos, erupções cutâneas, hálito com

odor de alho, distúrbios gastrintestinais e anormalidades no sistema nervoso (COMBS JR, 2001).

Estudos sugerem a existência de mais de cem selenoproteínas em mamíferos, tendo sido identificadas até o momento uma quantidade superior a 30 enzimas. Dentre as selenoproteínas conhecidas, destaca-se a glutathiona peroxidase (GPx), importante enzima do sistema de defesa antioxidante. Em humanos, sete isoformas de GPx são conhecidas, sendo cinco delas dependentes de selênio. A GPx 1 (citossólica), que é a mais abundante, tem como função catalisar ou reduzir o peróxido de hidrogênio (H₂O₂) e hidroperóxidos orgânicos livres, além de funcionar como reserva de selênio para situações de depleção do mineral (BROWN; ARTHUR, 2001; HOFFMAN; BERRY, 2005; PAPP; HOLMGREN; KHANNA, 2007).

O consumo inadequado de selênio, assim como a presença de polimorfismos nos genes da GPx, estão relacionados com redução na atividade dessa enzima, podendo assim prejudicar o sistema de defesa antioxidante do organismo (VIVANCO; MENGE; BARRIGA, 2010). Um dos polimorfismos mais estudados no gene da GPx1 é o polimorfismo de nucleotídeo único (*single nucleotide polymorphisms* - SNP) Pro198Leu, o qual consiste em uma substituição da base nitrogenada citosina por timina (C→T), resultando na troca do aminoácido prolina por leucina, no códon 198. A presença do alelo Leu tem sido associada com a redução da atividade total da glutathiona peroxidase, além de maiores riscos para alguns tipos de câncer (ICHIMURA et al., 2004; HANSEN et al., 2009; HU; DIAMOND, 2003; RAVN-HAREN et al., 2006).

O teor de selênio presente no solo, influenciado por fatores relacionados ao pH, ao tipo de rocha, à pluviosidade e ao uso de fertilizantes, determina a quantidade de selênio dos alimentos. O selênio tende a ser mais concentrado em solos de regiões secas, os quais geralmente são mais alcalinos. Já em regiões mais úmidas, a lixiviação pelas chuvas costuma influenciar na retirada de selênio do solo. Em regiões de solos ácidos mais arejados, o mineral costuma encontrar-se indisponível para captação pelas plantas, por estar presente em forma de complexos de selenito insolúveis (LYONS; STANGOULIS; GRAHAM, 2003; REILLY, 2006).

No Brasil, em virtude do seu extenso território, podem ser encontradas diferentes concentrações de selênio nos solos, o que pode propiciar consumo adequado desse mineral em algumas regiões e em outras não. Martens e Cozzolino (2002) avaliaram a concentração de selênio de feijão (*Phaseolus vulgaris*) de

diversos estados do país e verificaram que o feijão cultivado no Ceará continha maiores teores do elemento. Esse fato nos levou a comparar a população dessa região com a das demais regiões brasileiras, procurando observar, além do estado nutricional desses indivíduos, se a presença do polimorfismo Pro198Leu interferia na resposta observada. Este estudo faz parte de uma linha de pesquisa do Laboratório de Nutrição-Minerais da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo, que visa obter dados relativos ao estado nutricional de populações brasileiras quanto ao selênio e, ainda, avaliar biomarcadores mais robustos, que possam ser utilizados no futuro para fornecer dados mais precisos sobre o estado nutricional da população brasileira em relação a esse mineral.

2 REVISÃO DA LITERATURA

1.12.1 O selênio no solo e nos alimentos

O selênio é um metaloide encontrado na natureza em quatro estados de oxidação (0, +II, +IV e +VI) e nas formas químicas orgânica e inorgânica (GONZAGA; MARTENS; COZZOLINO, 2012; SEIXAS; KEHRIG, 2007; SUZUKI, 2005). A incorporação do selênio aos solos originou-se do magma e dos gases vulcânicos e, após degelo da era glacial, sua distribuição ocorreu de forma heterogênea pelos territórios do planeta (KÖHRLE, 1999).

O selênio presente nos solos pode estar nas formas de selênio elementar, selenato, selenito, selenido e nas formas orgânicas selenocisteína e selenometionina. O selenato é a forma mais assimilável para captação pelas plantas, enquanto o selenito é menos disponível, em virtude de sua maior capacidade de originar complexos com outras partículas presentes no solo. Em geral, solos ácidos contêm maiores teores de selenito, enquanto solos alcalinos contêm mais selenato, sendo por isso mais biodisponíveis em selênio para plantas e animais (GONZAGA; MARTENS; COZZOLINO, 2012; NAKAMARU; TAGAMI; UCHIDA, 2005; SEIXAS; KEHRIG, 2007).

A selenocisteína e a selenometionina, formas orgânicas do mineral, são análogas aos aminoácidos sulfurados cisteína e metionina, respectivamente. A selenocisteína é fornecida principalmente por alimentos de origem animal, já a selenometionina, que é a principal forma de selênio presente na dieta, pode ser fornecida tanto por fontes vegetais, quanto animais. As formas inorgânicas selenato e selenito são geralmente utilizadas em suplementos alimentares e na fortificação de alimentos. No organismo, tanto os compostos orgânicos, quanto os inorgânicos são transformados em um intermediário comum, o selenido (BOOSALIS, 2008; SUZUKI, 2005).

Nos sistemas biológicos, a selenocisteína é provavelmente a forma de selênio mais ativa biologicamente. O processo de absorção pode variar a partir das diferentes fontes da alimentação. O ponto crítico de sua biodisponibilidade, no entanto, parece ser sua incorporação nas selenoenzimas (IOM, 2000). Em geral, o selênio inorgânico é preferencialmente absorvido em situação de deficiência marginal

ou grave do mineral. Já a absorção de selenometionina ocorre independentemente do estado nutricional do indivíduo (SCHOMBURG; KOHRLE, 2008).

Os alimentos de origem animal, como carnes bovinas, frango, peixes, ovos e produtos lácteos, são considerados as principais fontes de selênio da dieta, juntamente com os cereais. Em geral, alimentos de origem vegetal são pobres no mineral (BAYOUMY-EL, 2001; COMBS JR, 2001; FAIRWEATHER-TAIT et al., 2011; FERREIRA, 2002). A castanha-do-brasil, no entanto, é conhecida como um dos alimentos mais ricos em selênio, com concentrações que variam de 29 a 115 µg/g de castanha (BORTOLI, 2010; COUTINHO, 2003; COMINETTI et al., 2011a; DUMONT et al., 2006; GONZAGA, 2002; PIRES, 2012; ROCHA, 2009).

Como já referido anteriormente, a concentração de selênio nos alimentos depende do local onde foram cultivados, pois reflete diretamente o teor do mineral no solo, que, por sua vez, depende de fatores geoquímicos, como pH e natureza da rocha originária. Nos solos, o selênio está presente nas mais diversas concentrações, havendo regiões com solos de concentração abaixo de 0,1 µg/g e outras com concentração maior que 1 mg/g. Sua existência em abundância em alguns solos propicia uma dieta adequada em selênio para determinadas populações (ANDERSON, 2005; FAIRWEATHER-TAIT, 1997; OLDFIELD, 1999; REILLY, 2006).

Em algumas regiões do mundo, como Finlândia, Nova Zelândia, Dinamarca, costa leste dos Estados Unidos, região central da Sibéria e China, o conteúdo de selênio no solo é extremamente baixo. Por conseguinte, as concentrações de selênio no soro de populações em todo o mundo variam consideravelmente, oscilando de 41,7 µg/L, na Finlândia a 158,2 µg/L no Canadá, por exemplo (COMBS JR, 2001; SAFARALIZADEH et al., 2005). Vários estudos já mostraram valores séricos de selênio reduzidos em diferentes populações nos mais variados territórios do globo terrestre, principalmente em países europeus e asiáticos, como Espanha, Grécia, Polônia e Austrália (ADAME et al., 2012; BECKETT; BALL, 2011; CAUWENBERGH et al., 1994; FAIRWEATHER-TAIT et al., 2011; GAC et al., 2012). Assim, baseado em pesquisas que avaliaram a concentração de selênio no plasma e no soro, estima-se que de meio a um bilhão de pessoas em todo o mundo possam apresentar deficiência em selênio (YAN et al., 2010).

Um estudo realizado na Rússia mostrou uma forte correlação ($r=0,79$) entre as concentrações séricas de selênio e o teor de selênio em farinhas de trigo, sugerindo que o estado nutricional dos indivíduos quanto *ao selênio na maioria dos*

casos era determinado pela elevada concentração de selênio no trigo. O mesmo estudo mostrou ainda diferenças na concentração sérica de selênio entre os indivíduos de acordo com a região do país (GOLUBKINA; ALFTHAN, 1999).

No Brasil, foi realizado um estudo que analisou a concentração de selênio em feijões produzidos em vários estados, constatando que o feijão produzido no Ceará tinha 1,2 µg de Se/g, enquanto que o produzido em São Paulo tinha apenas 0,016 µg de Se/g. Os feijões produzidos nos estados de Goiás e Mato Grosso do Sul também apresentaram valores baixos de selênio, estando esses três estados entre os com menores valores de selênio quando comparado aos demais estados avaliados (MARTENS; COZZOLINO, 2002). Nesse mesmo contexto, outro estudo avaliou a concentração de selênio em diferentes cortes de carne bovina de animais procedentes dos estados de São Paulo e Mato Grosso do Sul, encontrando quantidade de selênio significativamente maior nos cortes de carne sul matogrossenses (PIMENTEL, 2012).

Maia (2008) avaliou o estado nutricional de indivíduos com disfunções tireoidianas quanto ao selênio, considerando os residentes nos estados de São Paulo e do Ceará, comparando com um grupo de pessoas sem as disfunções. Os resultados mostraram que tanto os pacientes, quanto o grupo controle do Ceará, apresentaram concentrações de selênio plasmático e eritrocitário significativamente superiores aos de São Paulo.

2.12.2 O selênio e a glutathiona peroxidase

Os organismos dispõem de mecanismos químicos e enzimáticos para se protegerem contra os processos oxidativos. Os mecanismos químicos incluem moléculas com propriedades antioxidantes obtidas pela alimentação, como tocoferol (vitamina E), beta-caroteno (pro-vitamina A), selênio, cobre, zinco, ácido ascórbico e vitamina E, os quais atuam por meio da neutralização das Espécies Reativas de Oxigênio (ERO) produzidas intra e extracelularmente. Há ainda fatores antioxidantes não enzimáticos, como glutathiona (GSH), ácido úrico, bilirrubina, tióis e albumina (BERGER, 2005; PRADA et al., 2004).

Os mecanismos enzimáticos constituem o principal sistema de defesa antioxidante, sendo formado por enzimas antioxidantes, como a superóxido

dismutase (CuZn-SOD - citosólica e extracelular, Mn-SOD - mitocondrial), catalase (heme-enzima) e glutathiona peroxidase (GPx - dependentes e não dependentes de selênio). Estas decompõem, respectivamente, o ânion superóxido (O_2^-), o peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e os lipoperóxidos. A glutathiona redutase (GR) é outra enzima importante nesse processo, sendo responsável pela regeneração da glutathiona em sua forma reduzida (GSH), utilizada como substrato da enzima GPx (PRADA et al., 2004).

O conjunto das GPx, enzimas que possuem em seu sítio ativo quatro moléculas de selênio, constitui o principal sistema enzimático antioxidante. São conhecidas em humanos sete isoformas de GPx. Assim como outras selenoenzimas, a estrutura do sítio ativo de cinco isoformas de GPx contém selênio sob a forma de resíduos de selenocisteína, enquanto duas possuem cisteína, sendo por isso consideradas não-dependentes de selênio. A GPx, que é dependente de selênio, destaca-se como enzima antioxidante nas membranas celulares. As cinco GPx selenodependentes são: GPx 1 (citosólica) , GPx 2 (gastrintestinal), GPx 3 (plasmática), GPx 4 (fosfolípido hidroperóxido) e a GPx 6 (epitélio olfatório e tecidos embrionários) (VIVANCO; MENGE; BARRIGA, 2010; PAPP; HOLMGREN; KHANNA, 2007; HOFFMAN; BERRY, 2005).

A GPx 1 tem como função catalisar ou reduzir H_2O_2 e hidroperóxidos orgânicos livres, transformando o primeiro em água e o segundo em álcool, além de servir como reserva de selênio emergencial. A GPx 2 protege o trato gastrintestinal contra os hidroperóxidos e reage também com peróxidos resultantes de subprodutos do metabolismo no fígado. A GPx 3 serve como barreira antioxidante para o sangue filtrado e como proteção para células endoteliais contra danos oxidativos. A GPx 4 age neutralizando a ação de oxidação provocada nas membranas celulares pelos hidroperóxidos de ácidos graxos que são reduzidos e esterificados para fosfolípidios e na redução de hidroperóxidos e ésteres de colesterol, atuando ainda no bloqueio da peroxidação lipídica dos eicosanoides, o que contribui para a prevenção da aterogênese (HUANG; ROSE; HOFFMANN, 2012; PAPP; HOLMGREN; KHANNA, 2007).

A GPx citosólica é a mais abundante entre as GPx, existindo em todas as células do organismo. Foi a primeira enzima selenodependente descoberta e, apesar de desempenhar sua atividade reduzindo peróxidos de hidrogênio e hidroperóxidos orgânicos livres, não é capaz de metabolizar hidroperóxidos provenientes de fosfolípidios esterificados nas membranas celulares, os quais têm potencial para causar danos à estrutura do DNA da célula. Essa enzima exerce sua

função também como reserva corporal de selênio, visto que, sob condições de deficiência do mineral, sua quantidade reduz drasticamente na maioria dos tecidos acompanhada por uma diminuição de sua expressão gênica e de sua atividade (ARTHUR, 2000; BROWN; ARTHUR, 2001; DAVIS; TSUJI; MILNER, 2012; HOLBEN; SMITH, 1999; LEI; CHENG; McCLUNG, 2007; PAPP et al., 2007).

Uma vez que muitos agentes protetores contra a oxidação são enzimas que incorporam determinados princípios nutritivos ou minerais na estrutura de suas moléculas, pode se relacionar o estado nutricional do indivíduo como possível interferente nos mecanismos de defesa enzimáticos contra o estresse oxidativo. Diversos estudos comprovaram que a ingestão inadequada de nutrientes deprime a atividade de algumas enzimas antioxidantes, favorecendo o aparecimento de estresse oxidativo (VIVANCO; MENGE; BARRIGA, 2010).

A atividade da GPx encontra-se fortemente correlacionada com a concentração sanguínea de selênio, o que permite empregá-la como um indicador de balanço metabólico desse mineral. O consumo inadequado de selênio provoca redução da atividade da GPx, o que por sua vez pode afetar a resposta celular frente à ação de agentes oxidantes e desencadear o surgimento de estresse oxidativo (VIVANCO; MENGE; BARRIGA, 2010). A GPx 1 e a GPx 3 são as selenoproteínas que apresentam resposta mais rápida à depleção de selênio e, após a repleção, demoram mais tempo para serem detectadas e atingirem novamente seus níveis máximos de expressão (BRIGELIUS-FLOHÉ, 1999).

3.1.2.3 SNP Pro198Leu (rs1050450) no gene da GPx 1

O Projeto Genoma Humano, iniciado oficialmente em 1985 e concluído quinze anos depois, teve extrema importância para revelar as interações entre os genes e o meio ambiente. Foi capaz de mostrar não somente o sequenciamento completo dos genes humanos, como também descobriu diversas mutações (FUJII; MEDEIROS; YAMADA, 2010; VENTER; ADAMS; MYERS, 2001). Como consequências de mutações surgem os polimorfismos, seguidos da expansão do alelo mutante na população, podendo o ambiente ter a capacidade de modificar tanto os processos sequenciais de mutação genética, quanto essa expansão na população (TISHKOFF; VERRELLI, 2003). Tecnicamente, um *locus* polimórfico é aquele cujos alelos ou

variantes são tais que a variante mais comum entre eles ocorre em menos de 99% da população em geral e o alelo variante, portanto, deve ocorrer em mais de 1% da população (SCHORK; FALLIN; LANCHBURY, 2000).

Os diferentes tipos de polimorfismo são decorrentes do tipo de alteração que os originou, podendo ser inserções de pares de bases únicas, deleções ou substituições de um par de bases por outro. Os polimorfismos de nucleotídeo único, chamados de SNPs, que consistem na troca de um nucleotídeo por outro, constituem a variação mais comum na sequência primária do DNA. Sua ocorrência é de aproximadamente uma em cada 100 a 300 bases do genoma humano, estimando-se que existam mais de 10 milhões de SNPs (BROOKES, 1999; COOPER; SMITH; COOKE, 1985; SCHORK; FALLIN; LANCHBURY, 2000; SYVÄNEN, 2001; WANG; MOUT, 2001). Já os polimorfismos genéticos que resultam da inserção ou da deleção de nucleotídeos em fragmentos da molécula de DNA ocorrem em um décimo de frequência dos SNPs (NACHMAN et al., 2000; SCHORK; FALLIN; LANCHBURY, 2000). Os tipos mais comuns de polimorfismo de inserção/deleção são os de bases repetidas, chamados de STRs (*Simple Tandem Repeats*) ou microssatélites e os de padrões de nucleotídeos repetidos em uma região do DNA, conhecidos como VNTRs (*Variable Number of Tandem Repeats*) ou minissatélites (SCHORK; FALLIN; LANCHBURY, 2000).

Os polimorfismos podem causar alterações nas sequências de aminoácidos codificados, levando a prejuízos nas funções das proteínas, como alteração nos seus sítios de interação, na solubilidade e na estabilidade da proteína. Os SNPs localizados nas regiões codificadoras do gene (éxons), capazes de provocar essas alterações, são chamados de *non-synonymous* SNPs – nsSNPs (RAMENSKY; BORK; SUNYAEV, 2002). Muitas alterações, no entanto, não têm consequências funcionais no fenótipo do indivíduo, por não causarem alteração de aminoácidos, ou, ainda, pela mudança de aminoácido não ter efeito significativo na tradução da proteína. Algumas dessas mutações podem ocorrer nas regiões não codificadoras do gene (íntrons), apesar de já terem sido descobertas várias mutações em íntrons com efeito funcional (SYVÄNEN, 2001).

As interações existentes entre os genes e os nutrientes permitem descrever a modulação dos efeitos dos componentes alimentares em um fenótipo específico, associado a um polimorfismo genético (STRATIGOPOULOS et al., 2008). Estudos de genômica nutricional vêm mostrando associações importantes de

polimorfismos com o consumo de nutrientes, o que permite uma melhor compreensão de como a nutrição pode influenciar nas vias de homeostase metabólica, possibilitando, através dessas descobertas, a redução do risco de doenças (KAUWELL, 2005).

Polimorfismos na região codificadora dos genes de selenoproteínas podem alterar a incorporação de selênio e influenciar a capacidade antioxidante dessas enzimas (HESKETH, 2008). No gene humano da GPx 1, isoforma intracelular citosólica mais abundante e onipresente da enzima GPx, localizado no cromossomo 3p21.3, já foram encontrados diversos polimorfismos, sendo 38 SNPs, dentre os quais o Pro198Leu (rs1050450) tem sido apontado como funcional por diversos estudos. Nesse SNP ocorre uma substituição da base nitrogenada citosina por timina (C→T) no exon 2 do nucleotídeo 594 da enzima, resultando na troca do aminoácido prolina por leucina no códon 198 (DAVIS; TSUJI; MILNER, 2012; FOSBERG; DE FAIRE; MORGENSTERN, 1999). Essa troca pode causar algumas mudanças conformacionais importantes na GPx 1, uma vez que a prolina é o único aminoácido sem um grupo amino livre no carbono alfa, o que provoca uma torção na estrutura secundária dos peptídeos (HAMANISHI et al., 2004; JABLONSKA et al., 2009; KUZUYA et al., 2008; ARTHUR, 2000; RATNASINGHE et al., 2000).

A frequência desse polimorfismo pode variar de acordo com a etnia da população estudada. Estudos em populações asiáticas vêm mostrando frequências significativamente menores para o alelo variante (KUZUYA et al., 2008; LEI et al., 2009). Em estudos com populações europeias e americanas, a frequência do alelo costuma apresentar-se de forma bastante similar. No geral, o maior percentual é de indivíduos com genótipo selvagem (Pro/Pro), seguidos por indivíduos heterozigotos para o polimorfismo, ou seja, com um alelo variante (Pro/Leu) e depois por indivíduos homozigotos para o polimorfismo (Leu/Leu). A presença de dois alelos variantes costuma variar de 7 a 20% nessas populações, tendo sido observados os maiores percentuais em turcos e finlandeses (SUZEN et al., 2010).

A presença do alelo Leu tem sido associada com maior risco para alguns tipos de câncer (CHEN et al., 2011). Entretanto, sabe-se que o câncer é uma doença multifatorial, que surge de interações complexas entre fatores genéticos e ambientais (PHAROAH et al., 2004). Muitas evidências apontam que o estresse oxidativo desempenha papel crucial para a formação e progressão do câncer, em virtude dos efeitos nocivos das EROs nas células, como danos ao DNA que, por sua vez, podem levar a proliferações neoplásicas (COOKE et al., 2003; FOSBERG; DE

FAIRE; MORGENSTERN, 2001). Uma vez que a GPx constitui o principal mecanismo antioxidante do organismo, alterações em sua atividade provocadas pelo polimorfismo Pro198Leu poderiam explicar, assim, sua relação com a doença.

Os estudos apontam maiores associações desse polimorfismo com câncer de bexiga (ICHIMURA et al., 2004; KUCUKGERGIN et al., 2012; PAZ-Y-MIÑO et al., 2010), câncer colorretal (HANSEN et al., 2009; MEPLAN et al., 2010), câncer de pulmão (RATNASINGHE et al., 2000; YANG et al., 2004) e tumores cerebrais (BHATTI et al., 2009). A associação com câncer de mama tem sido confirmada em alguns estudos (HU; DIAMOND, 2003; RAVN-HAREN et al., 2006), mas não em outros (COX et al., 2004; AHN et al., 2005), demonstrando que resultados acerca da relação desse polimorfismo com o câncer são ainda conflitantes.

Um dos principais achados dos trabalhos que avaliam o polimorfismo Pro198Leu é a diminuição da atividade da GPx 1 na presença do alelo Leu. Alguns estudos encontram, ainda, correlação entre a concentração de selênio eritrocitário e a atividade da GPx apenas nos indivíduos de genótipo selvagem, indicando que a presença do alelo Leu pode influenciar no estado nutricional dos indivíduos quanto ao selênio.

Ravn-Haren e colaboradores (2006) constataram em mulheres com câncer de mama, por exemplo, que a atividade da GPx 1 foi significativamente menor quando havia a presença do alelo Leu em comparação com o alelo Pro, tanto no grupo de mulheres doentes, quanto no grupo controle. O mesmo não foi observado por Fosberg et al. (2000) que, ao avaliarem suecos com doenças cardiovasculares, não encontraram diferença na atividade da GPx 1 em indivíduos Pro/Pro, Pro/Leu ou Leu/Leu, sugerindo ausência de correlação entre a atividade da GPx 1 e o genótipo. Jablonska et al. (2009) também não observaram diferenças na concentração de selênio ou na atividade da GPx 1 de acordo com o genótipo em indivíduos poloneses em tratamento hospitalar de doenças não neoplásicas não relacionadas ao tabagismo. Ao avaliar a associação entre a atividade da GPx 1 e a concentração de selênio em cada grupo de genótipo, porém, foi observada correlação entre as variáveis nos grupos Pro/Pro e Pro/Leu.

Em estudo de Cominetti et al. (2011a), realizado no laboratório de Minerais da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo, o qual avaliou os efeitos da suplementação com castanha-do-brasil sobre o estresse

oxidativo em mulheres obesas e sua relação com o SNP Pro198Leu, também não foram verificadas diferenças nas concentrações de selênio e na atividade eritrocitária total da GPx entre os diferentes genótipos, em ambas as fases pré e pós suplementação. As participantes que apresentavam pelo menos um alelo variante, no entanto, apresentaram níveis de atividade da GPx 16,4 e 15,5% menores do que as homozigotas selvagens antes e depois do período de 8 semanas de suplementação, respectivamente. Além disso, a suplementação promoveu efeitos distintos nos diferentes genótipos com relação aos danos ao DNA, observando-se que os níveis de danos no grupo homozigoto para a variante foram maiores em comparação com o grupo portador do genótipo selvagem após a suplementação.

Outras doenças vêm sendo relacionadas com o polimorfismo Pro198Leu no gene que codifica para a enzima GPx 1, como depressão (JOHNSON et al., 2013), síndrome metabólica (KUZUYA et al., 2008) e doenças cardiovasculares (HAMANISHI et al., 2004) e níveis elevados de triglicerídeos (CHEN et al., 2012) em pacientes com diabetes melito tipo 2.

Considerando a importância desse polimorfismo em ser capaz de provocar mudanças no estado nutricional relativo ao selênio dos indivíduos pela alteração na atividade da enzima GPx, comprometendo o sistema de defesa antioxidante do organismo, justifica-se o interesse em investigar a sua frequência na população brasileira. A inexistência de dados do polimorfismo na população cearense contribuiu de forma significativa para a realização deste trabalho. Como parte de um estudo multicêntrico que será realizado em alguns estados brasileiros, este trabalho teve como objetivo principal estudar o polimorfismo Pro198Leu no gene que codifica para a enzima selênio-dependente GPx 1 e a sua relação com o estado nutricional relativo a esse mineral em uma população adulta residente no município de Fortaleza, no estado do Ceará, onde alguns estudos já apontaram a existência de um solo rico em selênio (MARTENS; COZZOLINO, 2002; MAIA, 2008).

3 OBJETIVOS

3.1 Geral

- Verificar a associação entre o estado nutricional relativo ao selênio e o polimorfismo Pro198Leu no gene que codifica para a glutathione peroxidase 1 de uma população adulta residente no município de Fortaleza.

3.2 Específicos

- Determinar a frequência do polimorfismo Pro198 no gene que codifica para a GPx 1 na população estudada;
- Avaliar o estado nutricional relativo ao selênio da população estudada (concentrações de selênio no plasma e nos eritrócitos e atividade enzimática da GPx);
- Avaliar a ingestão alimentar de selênio e de macronutrientes pela população estudada.
- Avaliar o estado nutricional da população em estudo por meio da antropometria.

4 CASUÍSTICA E MÉTODOS

4.1 População

Este estudo foi do tipo transversal e amostragem do tipo não probabilística de conveniência. A população do estudo foi constituída por 176 indivíduos de ambos os gêneros, com idade entre 20 e 50 anos, voluntários, que residiam no município de Fortaleza, Ceará.

Para isso foram adotados os seguintes critérios de inclusão: não uso de suplementos vitamínicos ou minerais, nem de anti-inflamatórios; ausência de etilismo crônico e de tabagismo; ausência de doenças crônicas não transmissíveis que interferissem no estado nutricional relativo ao selênio; ausência de menopausa em mulheres; ausência de descendência oriental e ausência de prática de esportes como atletas de elite.

Todos os participantes foram esclarecidos sobre os procedimentos aos quais seriam submetidos e sobre o destino do material biológico coletado, assim como sobre a demanda de tempo necessário para a realização do estudo. Todos assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (apêndice 1) antes do início da pesquisa, o qual garantia aos participantes direito ao anonimato, utilização dos dados somente para fins de pesquisa e desistência a qualquer momento da pesquisa sem nenhum prejuízo ou constrangimento para o paciente, conforme resolução CNS 196/96. O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética da Faculdade de Ciências Farmacêuticas, sob protocolo número 596, em 28/11/2011.

Foi aplicado um questionário a fim de obter informações pessoais e socioeconômicas dos participantes (apêndice 2), contendo perguntas sobre gênero, idade, nível de escolaridade, renda, prática de atividade física, tempo de residência no município de Fortaleza, dentre outros dados. Além disso, foi obtida uma alíquota de sangue (20mL) de cada participante e informações sobre a ingestão alimentar. Na Figura 1 encontra-se o fluxograma da pesquisa.

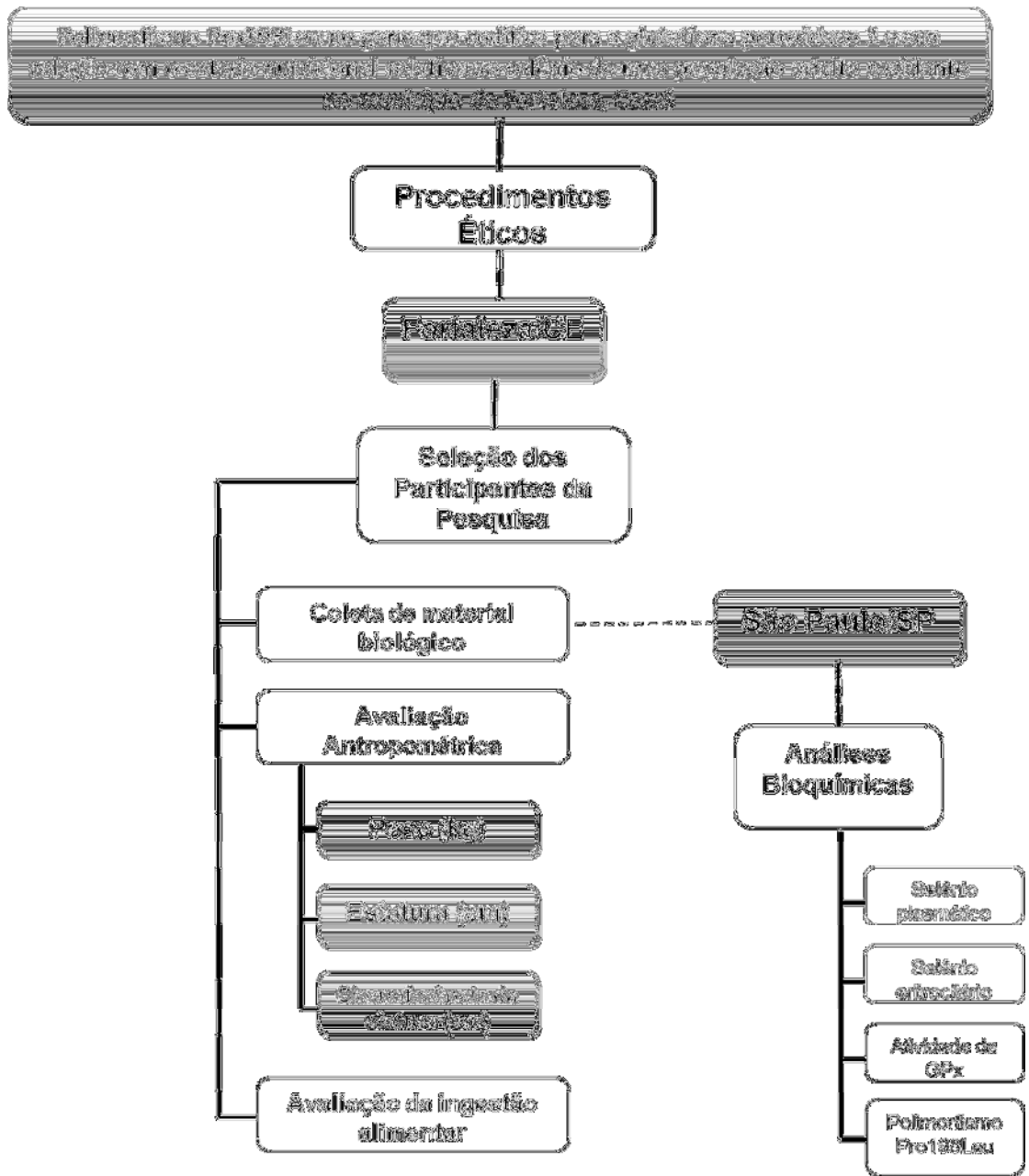


Figura 1. Fluxograma de atividades do estudo. São Paulo, 2013.

4.2 Avaliação antropométrica

Foram realizadas medidas antropométricas de peso (kg) e estatura (cm), segundo metodologia de Frisancho (1990). Também foi obtida a medida de circunferência da cintura (CC) com fita inelástica, circundando o indivíduo no ponto médio entre a última costela e a crista ilíaca (WHO, 2008).

O Índice de Massa Corpórea (IMC) foi calculado dividindo-se o peso aferido pela estatura ao quadrado e, para determinação do diagnóstico nutricional, adotou-se a classificação para adultos da Organização Mundial de Saúde (WHO, 2004). Para circunferência da cintura adotaram-se os pontos de corte estabelecidos também pela Organização Mundial de Saúde (WHO, 2000).

4.3 Avaliação da ingestão alimentar

Para avaliação da ingestão alimentar foi utilizado o método de recordatório de 24 horas (apêndice 3), coletado em dois dias de semana não consecutivos e um dia de final de semana, totalizando três recordatórios. O primeiro recordatório foi obtido no dia da coleta do sangue e os dois últimos recordatórios foram obtidos por telefone.

A composição da dieta em energia, macronutrientes e selênio foi calculada pelo programa NUTWIN, versão 2.5, do Departamento de Informática da Escola Paulista de Medicina/UNIFESP, no qual foram inseridos alimentos cujas concentrações de selênio haviam sido previamente determinadas em análises no Laboratório de Nutrição-Minerais da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo e pelo estudo de Ferreira e colaboradores (2002).

Os dados de consumo alimentar foram submetidos à comparação com os valores propostos pela DRIs de 2000. Também foi realizado o ajuste pela energia dos valores de selênio encontrado (WILLET, 1998).

4.4 Determinação bioquímica da concentração de selênio

4.4.1 Lavagem de material para análise de mineral

Os materiais como vidraria e recipientes plásticos usados durante os experimentos e análises foram cuidadosamente desmineralizados em banho de ácido nítrico a 20%, por um tempo mínimo de 12 horas, sendo enxaguados dez vezes em água nanopura e secos em estufa inox para material desmineralizado a 25°C. Após a etapa de lavagem, foram embalados em sacos plásticos até o momento do uso. Este procedimento é padrão do Laboratório de Nutrição-Minerais/USP, apesar de alguns autores acreditarem que a contaminação mineral em relação ao selênio seja desprezível.

4.4.2 Reagentes

Todos os reagentes utilizados nas análises têm grau de pureza analítica P.A. A água utilizada para o preparo das soluções, curva de calibração e diluição das amostras foi do tipo nanopura.

4.4.3 Controle da metodologia da análise de selênio

Adotou-se como padrão de referência para controle de qualidade da metodologia usada para análise de selênio o material certificado SERONORM[®] para plasma e eritrócitos.

4.4.4 Colheita de material biológico

Foram colhidos 20 mL de sangue, estando os participantes em jejum de 8 horas, com o uso de seringas plásticas e agulhas de aço inoxidável, ambas estéreis

e descartáveis. A colheita foi realizada por profissional devidamente treinado e certificado, em um único dia previamente marcado com o participante.

Utilizou-se tubos de polipropileno com EDTA (anticoagulante) para dosagens de selênio no plasma, eritrócitos, GPx nos eritrócitos e determinação do polimorfismo Pro198Leu no gene da GPx 1.

Primeiramente, alíquotou-se, em microtubos estéreis, o sangue total a ser utilizado para a análise do polimorfismo, os quais foram armazenados em temperatura de -80°C até o momento da análise.

O plasma foi separado do sangue total após centrifugação a 3.000 rpm, durante 15 minutos (SORVALL® RC5C), colocado em microtubos de polipropileno previamente desmineralizados e armazenado em temperatura de -80°C.

Para obtenção dos eritrócitos, após retirada do plasma, o sangue foi lavado três vezes com 5 mL de solução fisiológica isotônica a 0,9 %, homogeneizado lentamente por inversão e centrifugado a 10.000 rpm por 10 minutos (SORVALL® RC5C), descartando-se os sobrenadantes em cada processo. Após o último processo, a massa eritrocitária foi colocada também em microtubos de polipropileno devidamente desmineralizados, sendo armazenados a -80°C para posteriores análises.

4.4.5 Análise de selênio

As dosagens de selênio no plasma e nos eritrócitos foram realizadas por espectrometria de absorção atômica com gerador de hidretos acoplado a cela de quartzo – HGQTAAS, em espectrofotômetro modelo Z-5000, marca HITACHI (Tokyo, JP) (HAO et al., 1996; SABÉ et al., 2000; ROMERO et al., 2001). Primeiramente, procedeu-se a digestão das amostras por via úmida ácida, em sistema aberto. Foram acrescentados às amostras 5 mL de ácido nítrico 68% P.A. (Merck®), mantendo-as em repouso durante a noite e colocando-as, em seguida, no bloco digestor, com temperatura inicial de 50°C, aumentada gradativamente até 150°C. Após essa etapa, foram acrescentados 5 mL de ácido clorídrico 1,2 N para reduzir o selênio presente na solução da forma Se(VI) para Se(IV), permanecendo por duas horas em temperatura de 100°C. Todas as amostras foram digeridas em duplicata,

realizando-se a diluição para 25 mL em balão volumétrico, com água nanopura. Os resultados foram expressos em µg/L.

4.5 Determinação da atividade enzimática da GPx

A atividade da enzima GPx foi determinada nos eritrócitos segundo método cinético descrito por Paglia e Valentine (1967). As leituras foram realizadas a 37°C em Analisador bioquímico Labmax 240 (Labtest, Lagoa Santa, MG, BR), num comprimento de onda de 340 nm. Foi utilizado *kit* comercialmente disponível (Ransel[®], Randox Laboratories, UK). O método se baseia na oxidação da glutationa reduzida por um hidroperóxido, catalisada pela GPx. Na presença da enzima e do cofator NADPH, a glutationa oxidada é imediatamente convertida à forma reduzida com a oxidação concomitante do NADPH em NADH⁺.

A concentração de hemoglobina do hemolisado também foi determinada para expressar resultado final em unidades de enzima por grama de hemoglobina (U/g Hb), considerando os valores de referência proposto pelo *kit* (27,5 a 73,6 U/g Hb).

4.6 Determinação do SNP Pro198Leu (rs1050450) no gene da GPx 1

Primeiramente, foi realizada a extração de DNA com o kit Purelink™ Genomic DNA da Life Technologies. A quantificação de DNA extraído foi realizada em espectrofotômetro Nanodrop[®].

A genotipagem da população do estudo foi realizada pelo sistema TaqMan SNP Genotyping Assays[®] (Life Technologies[®], Foster City, CA, US), de acordo com as instruções do fabricante, com a utilização de *primers* e sondas específicos para o SNP estudado. Este sistema é baseado na análise *end-point* da Real Time-PCR ou Reação em Cadeia da Polimerase em Tempo Real.

As sondas são pequenas sequências de nucleotídeos que vêm com o alelo complementar ao variante no meio da região onde está o polimorfismo. Cada sonda é marcada com fluoróforos de cores diferentes e um *quencher*, cuja substância absorve a excitação de energia provinda do fluoróforo. Como o SNP

Pro198Leu da GPx 1 é uma troca da base C por T, foram construídas duas sondas: uma com o alelo complementar ao C, ou seja, com a base G, e a outra com o alelo complementar ao T, ou seja, com a base A. Quando esta sonda se liga perfeitamente na sua sequência complementar da fita de DNA, o fluoróforo e o *quencher* se separaram, permitindo que a luz seja emitida e captada pelo aparelho durante a PCR (LIVAK et al., 1995).

Para proceder a reação, foram preparadas placas de 48 poços, com volume final de 25 µL em cada poço, sendo 13,75 µL do *mix* de reação e 11,25 µL da amostra de DNA diluída em água autoclavada. O *mix* de reação foi composto do Master Mix[®] e do Assay Mix[®], o qual continha a sonda, sendo ambos componentes do sistema TaqMan SNP Genotyping Assays[®]. A reação ocorreu seguindo o seguinte protocolo: 10 minutos a 95°C para ativação da enzima, seguido de 40 ciclos de 15 segundos a 92°C para desnaturação e de um minuto a 60°C para o anelamento.

4.7 Análise estatística

Foram calculadas as seguintes medidas estatísticas e epidemiológicas: média, mediana, valor máximo, valor mínimo, desvio padrão, coeficiente de variação e coeficiente de correlação. Foram testadas a normalidade através do teste Kolmogorov-Smirnov e a homogeneidade de variância, com o teste de Levene. Os dados foram separados de acordo com os genótipos relativos ao polimorfismo Pro198Leu e testados entre todos os genótipos, ou seja, Pro/Pro x Pro/Leu x Leu/Leu, com o teste de ANOVA. Como as variâncias foram iguais, fez-se as comparações múltiplas pelo Teste de Tukey, a fim de ver quais os pares que diferiram. Correlações lineares de Pearson ou Spearman foram calculadas também de acordo com a simetria/distorção dos dados. Foi adotado o nível de significância de 5% como padrão. Quando este nível se apresentar entre 6-10%, os resultados serão considerados marginalmente significativos.

O ajuste do consumo de selênio pela energia fornecida pela dieta foi realizado pelo método residual proposto por Willet (1998), sendo primeiramente testada a normalidade dos valores pelo teste de Kolmogorov-Smirnov. Após essa etapa, aplicou-se a correlação linear de Pearson para verificar a existência de correlação entre o consumo de energia e o dos demais nutrientes, incluindo o

selênio. Em seguida, foram aplicados testes de regressão linear simples, considerando a energia como variável independente e cada nutriente como variável dependente, para determinar os valores dos nutrientes estimados, residuais, constantes e ajustados. Ao final, a média dos valores de ingestão dos nutrientes foi igual tanto em suas formas ajustadas quanto em suas formas brutas, já os valores dos desvios-padrão após o ajuste foram reduzidos.

O equilíbrio de Hardy-Weinberg foi calculado por meio do teste Qui-Quadrado, com a utilização da calculadora para marcadores bialélicos (RODRIGUEZ, GAUNT, DAY, 2009).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Caracterização da população do estudo

5.1.1 Características socioeconômicas

O estudo foi composto por 176 participantes, sendo 79 homens (45%) e 97 mulheres (55%). A média de idade encontrada foi de $30,4 \pm 8,9$ anos, com a faixa etária mais representativa sendo a de 20 a 29 anos, a qual correspondeu a 55,1% dos participantes.

A maioria dos indivíduos era solteira (59,7%), com filhos (51,1%) e com renda mensal familiar na faixa de 2 a 5 salários mínimos (Tabela 1).

Tabela 1. Características socioeconômicas dos participantes. São Paulo, 2013.

VARIÁVEIS	n = 176
Estado Civil	
Solteiro	105 (60%)
Casado/União Estável	62 (35%)
Separado/Divorciado	9 (5%)
Filhos	
Sim	90 (51%)
Não	86 (49%)
Renda Familiar	
Menor que 1 salário mínimo	7 (4%)
De 1 a 2 salários mínimos	18 (10%)
De 2,1 a 5 salários mínimos	81 (46%)
De 5,1 a 10 salários mínimos	45 (26%)
Acima de 10 salários mínimos	25 (14%)

No município de Fortaleza, capital do estado do Ceará, a população estimada pelo IBGE para o ano de 2013 é de aproximadamente 2,5 milhões de habitantes. No último censo, do ano de 2010, no qual o total de habitantes era cerca de cem mil pessoas a menos, o percentual de mulheres era de 53,2% e o de homens de 46,8%. O censo de 2010 apontou ainda que a cada 100 mulheres havia pelos menos 93 homens no estado, percentual menor que a média nacional e do Nordeste (BRASIL, 2010).

Ainda de acordo com o censo de 2010, a faixa etária mais representativa da população foi a de 20 a 29 anos, tanto na capital, quanto no estado, coincidindo com a faixa etária mais representativa do presente estudo. O Ceará e o Nordeste, inclusive, apresentam populações mais jovens que a média brasileira (BRASIL, 2010).

A renda das famílias vem aumentando nos últimos anos, demonstrada pelo aumento da classe C no país. A maior parte dos participantes do estudo apresentava uma renda mensal familiar de 2,1 a 5 salários mínimos. Os dados divulgados pelo último censo apontam que o valor do rendimento nominal médio mensal das pessoas economicamente ativas no município de Fortaleza era de 1.489,41 reais (BRASIL, 2010).

A escolaridade dos participantes encontra-se representado na Figura 2. A maioria dos indivíduos (42%) era composta por estudantes universitários.

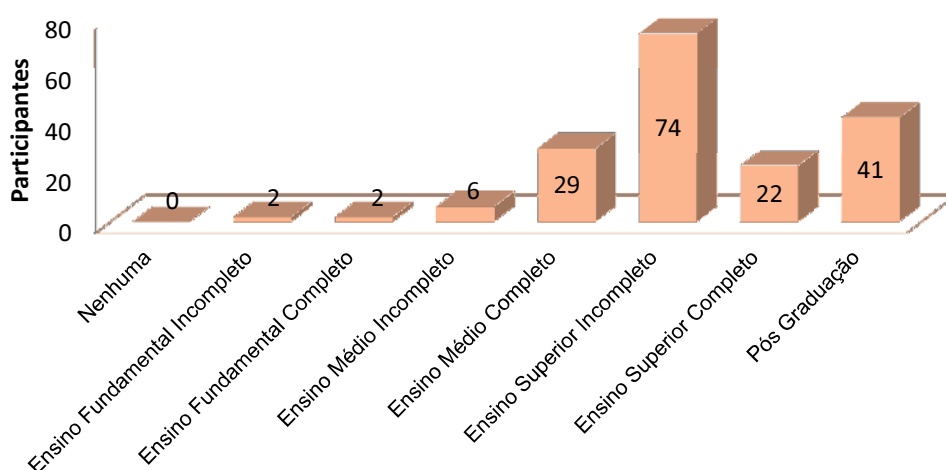


Figura 2. Escolaridade dos participantes. São Paulo, 2013.

Os indicadores educacionais da população cearense têm apresentado uma evolução, com melhorias na escolaridade média dos adultos de 25 anos ou mais, na taxa de analfabetismo de pessoas de 15 anos ou mais e no percentual de analfabetos para os adultos de 25 anos ou mais. Os participantes do estudo, em sua maioria, eram estudantes universitários, uma vez que a seleção dos participantes ocorreu na Universidade Estadual do Ceará, entre alunos, professores e funcionários (BRASIL, 2010; CEARÁ, 2012).

Os participantes foram questionados sobre a qual etnia pertenciam e a mais relatada foi a parda (59,1%) (Figura 3).

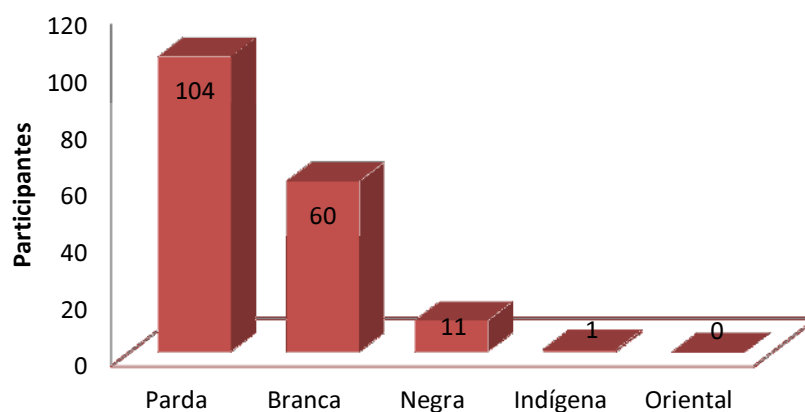


Figura 3. Etnia relatada pelos participantes. São Paulo, 2013.

A distribuição da população por cor ou raça demonstra a diversidade étnica do Brasil. O estado do Ceará tem origem fortemente ligada aos povos indígenas. O próprio nome do estado provém da palavra “siará”, que significa “canto da jandaia”, em linguagem tupi. A população cearense é formada pela miscigenação de índios e colonizadores europeus, principalmente portugueses. A presença de negros é pequena (FARIAS, 1997).

A população brasileira, em relação à etnia, é classificada em cinco categorias, de acordo com a cor da pele: branca, negra, amarela, indígena e parda (incluindo-se nesta categoria a pessoa que se declarou mulata, cabocla, cafuza, mameluca ou mestiça de preto com pessoa de outra cor ou raça). Trata-se de uma classificação subjetiva, pois é baseada na declaração do entrevistado (BRASIL, 2010).

Em 2011, a população do Brasil que se declarou branca correspondia a 47,8%, enquanto pardos correspondiam a 43,1% e negros a 8,2%. No Nordeste e no Ceará, o maior percentual da população também se declara branca ou parda. No mesmo ano, os brancos eram 28,9% no Nordeste e 34% no Ceará, enquanto os pardos eram 59,8% no Nordeste e 61,9% no Ceará (BRASIL, 2010; CEARÁ, 2012).

5.1.2 Hábitos de vida

A maioria dos participantes afirmou não fazer uso de bebidas alcóolicas (64%) e nunca ter fumado (86%). A prática de atividade física foi relatada por metade (50%) dos participantes (Tabela 2).

Tabela 2. Hábitos de vida dos participantes. São Paulo, 2013.

VARIÁVEIS	n = 176
Histórico de Tabagismo	
Nunca fumou	151 (86%)
Ex-fumante	25 (14%)
Uso de bebida alcoólica	
Nunca bebeu	113 (64%)
Consome álcool habitualmente	63 (36%)
Prática de Atividade Física	
Sim	88 (50%)
Não	88 (50%)

5.1.3 Doenças na família

Quando questionados sobre o histórico de doenças na família, as mais relatadas pelos participantes foram hipertensão arterial sistêmica, diabetes melito, doenças cardiovasculares, câncer e obesidade (Figura 4).

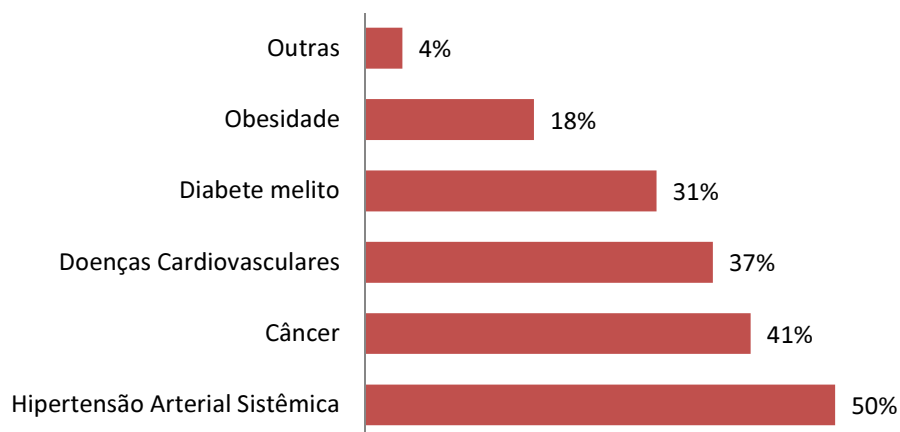


Figura 4. Histórico de doenças nas famílias dos participantes. São Paulo, 2013.

As doenças crônicas não transmissíveis estão cada vez mais presentes na população e são consideradas um problema de saúde pública de grande magnitude no mundo. No Brasil, essas doenças representam a primeira causa de mortalidade e hospitalizações. Dentre elas, destacam-se as doenças cardiovasculares, o diabetes melito e as neoplasias (BRASIL, 2011a; BRASIL, 2012; OPAS, 2010; WHO, 2003). O elevado número de casos dessas doenças na atualidade justifica o alto percentual relatado pelos participantes do estudo sobre o histórico de doenças na família.

5.2 Características antropométricas

Os dados antropométricos, representados por peso, estatura, IMC e circunferência da cintura (CC) estão relatados na Tabela 3.

Tabela 3. Dados antropométricos dos participantes. São Paulo, 2013.

Variável	Peso (kg)	Estatura (m)	IMC (kg/m ²)	CC (cm)
Média	67,7	1,70	24,5	82,5
Mediana	66,0	1,70	24,0	81,0
DP ¹	14,8	0,10	4,1	11,9
V mín ²	38,2	1,40	15,9	60,0
V máx ³	110,0	1,90	37,8	116,0

¹ DP: desvio padrão; ² V mín: valor mínimo; ³ V máx: valor máximo; IMC: índice de massa corporal; CC: circunferência da cintura.

A utilização do IMC é indicada pela OMS como método mais útil para avaliação nutricional, por ser de baixo custo e facilmente aplicável (WHO, 2004). Os critérios de inclusão utilizados para a seleção dos participantes do estudo não consideravam valores de IMC. Ao realizar a avaliação antropométrica, foram revelados indivíduos com magreza, sobrepeso e obesidade. A Figura 5 mostra a distribuição dos participantes nas faixas de IMC encontradas. A maioria dos participantes (58%) encontrava-se em eutrofia.

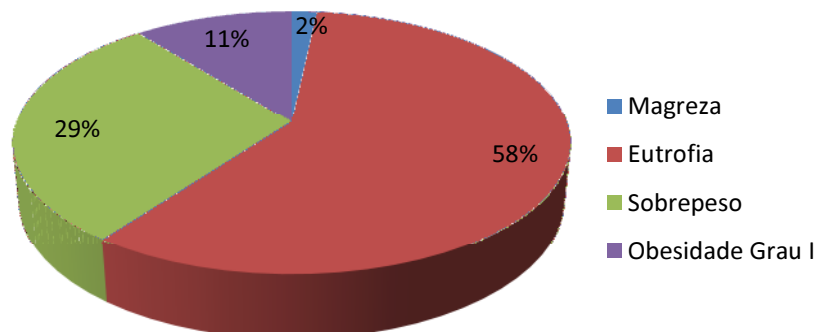


Figura 5. Distribuição dos participantes nas faixas de IMC. São Paulo, 2013.

Comparando-se segundo o gênero, a presença de sobrepeso e obesidade foi maior nos homens do que nas mulheres. Dos 79 homens, 43% apresentavam sobrepeso e 18% obesidade grau I. Já entre as mulheres, somente 12% sobrepeso apresentavam e 5% obesidade grau I (Figura 6).

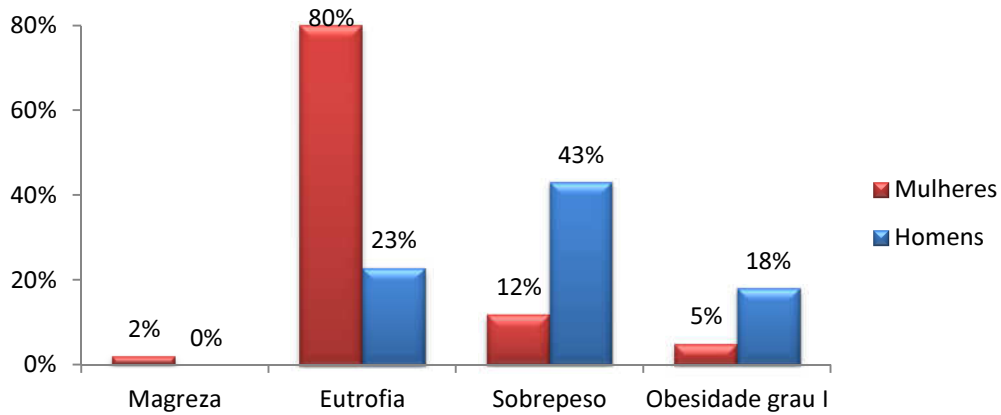


Figura 6. Distribuição dos participantes nas faixas de IMC, de acordo com o gênero. São Paulo, 2013.

A circunferência da cintura é utilizada como preditor de risco para o desenvolvimento de doenças cardiovasculares. Na Figura 7, estão representados os valores encontrados de circunferência da cintura, separados por gênero. Entre as mulheres, 22,7% apresentaram risco aumentado e 5,1% risco muito aumentado para doenças cardiovasculares. Já entre os homens, 30,4% apresentaram risco aumentado e 11,2% apresentaram risco muito aumentado.

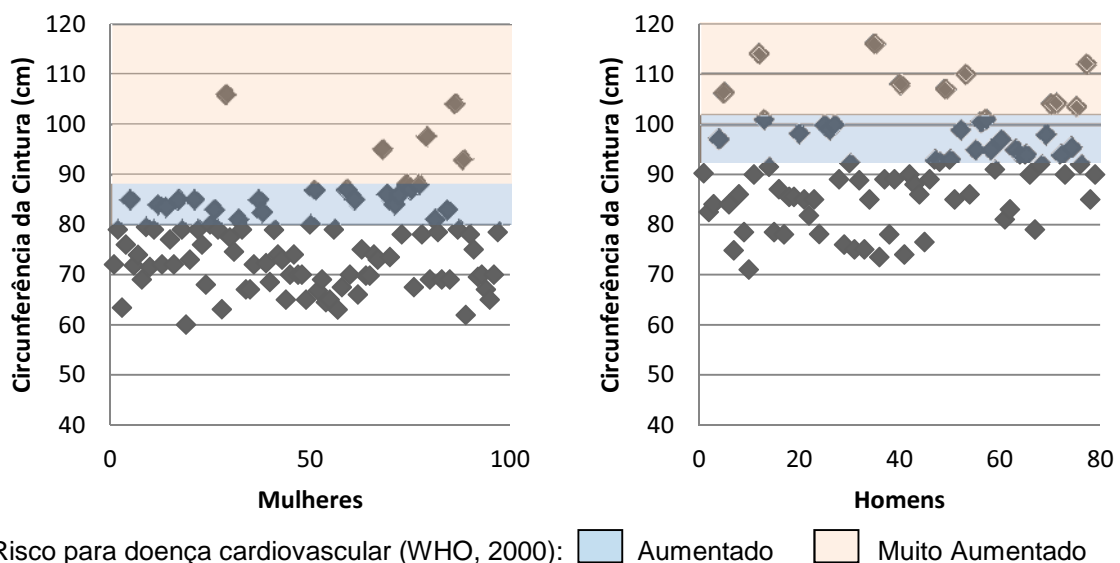


Figura 7. Distribuição dos valores de circunferência da cintura para mulheres e homens. São Paulo, 2013.

Foram encontradas correlações positivas entre o IMC e a idade ($r=0,442$; $p<0,0001$) e entre a circunferência da cintura e a idade ($r=0,465$; $p<0,0001$).

O percentual de pessoas com excesso de peso supera mais da metade da população brasileira. Um estudo do Ministério da Saúde apontou que 51% dos brasileiros acima de 18 anos apresenta excesso de peso, com a obesidade atingindo 17% da população. Esse estudo revela ainda que a obesidade aumentou no país, pois em 2006 o percentual de obesidade era de 11%. Em Fortaleza, o índice de excesso de peso atinge 52,8% e o de obesidade 18,8%, ocupando o quinto lugar na classificação de excesso de peso por capital do país (BRASIL, 2012; BRASIL, 2011b).

As diferenças entre homens e mulheres também são mostradas no estudo do Ministério da Saúde. O excesso de peso atinge 54% dos homens, enquanto nas mulheres atinge 48%. Já com relação à obesidade, 18% das mulheres estão obesas, contra 16% dos homens (BRASIL, 2011b). Tais diferenças entre os gêneros foram observadas de forma mais acentuada pelos resultados do presente estudo em relação ao IMC, com 43% dos homens apresentando sobrepeso, contra 12% das mulheres.

O mesmo estudo do Ministério da Saúde encontrou ainda relação entre a obesidade e as fases da vida. Na faixa etária de 18 a 24 anos, 28% da população estava acima do peso ideal. Na faixa etária dos 35 aos 44% esse percentual quase dobra, atingindo 55% (BRASIL, 2011b).

O excesso de peso está relacionado com o surgimento das doenças crônicas não transmissíveis, como o diabetes melito, as doenças cardiovasculares e as neoplasias. Além da mortalidade, as doenças crônicas apresentam forte carga de morbidades relacionadas, sendo responsáveis por grande número de internações, além de envolver perda significativa da qualidade de vida, que se aprofunda à medida que as doenças se agravam (BRASIL, 2012).

5.3 Avaliação da ingestão alimentar

A Tabela 4 mostra os resultados da ingestão de energia, macronutrientes e selênio, obtidos por meio de três recordatórios de 24 horas e calculados pelo *software* Nutwin.

Tabela 4. Valores de ingestão de energia, macronutrientes e selênio na população estudada. São Paulo, 2013.

	Energia	Carboidratos		Proteínas		Lipídios		Selênio
	(kcal/dia)	(g)	(% VET)	(g)	(% VET)	(g)	(% VET)	(µg/dia)*
Média	2084,6	269,8	52,3	100,0	19,4	64,7	28,1	76,9
Mediana	1924,3	259,6	52,1	86,9	18,1	61,1	28,0	64,3
DP ¹	616,7	83,2	7,6	46,8	7,8	23,7	5,7	47,5
V mín ²	1040,5	104,3	26,9	34,8	7,6	28,0	16,4	12,9
V máx ²	4005,1	529,1	84,3	367,3	77,8	171,8	48,9	349,6

¹ DP: desvio padrão; ² V mín: valor mínimo; ³ V máx: valor máximo; VET = Valor Energético Total
*valores ajustados pela energia

As DRIs, estabelecidas pelo *Institute of Medicine* (2000), recomendam que os carboidratos contribuam de 45 a 65% sobre o valor energético total (VET), que as proteínas contribuam de 10 a 35% e os lipídios de 20 a 35%. A média de distribuição dos macronutrientes da dieta dos participantes estava dentro dos intervalos recomendados, para cada um deles, em relação ao VET. De forma mais detalhada, 84,2% dos participantes apresentaram ingestão de carboidratos e de lipídios adequada e 95,9% apresentaram ingestão adequada de proteínas.

A média de ingestão de selênio foi de 76,9 µg/dia, valor superior às recomendações estabelecidas de 45 µg/dia para EAR e 55 µg/dia para RDA para adultos, satisfatório por não ultrapassar o UL de 400 µg/dia (IOM, 2000). Somente 15,1% dos participantes apresentaram média de ingestão de selênio abaixo de 45 µg/dia.

A ingestão de selênio pela população brasileira, de acordo com poucos estudos que realizaram essa avaliação, tem variado de 18 a 200 µg/dia (BOAVENTURA, 1991; BORTOLI, 2009; CINTRA, 1990; DONADIO, 2011; FÁVARO et al., 1997; MAIA, 2008). Donadio (2011), que verificou a ingestão de selênio de adultos com o mesmo

perfil do presente estudo, residentes no município de São Paulo, encontrou média de 41,2 µg/dia. Já Maia (2008), nos grupos controle de seu estudo com pacientes que apresentavam disfunções tireoidianas, encontrou a média de ingestão de 110 µg/dia de selênio no grupo de São Paulo e de 200 µg/dia no grupo do Ceará.

A avaliação da ingestão alimentar de selênio não é uma tarefa fácil, tanto pelas dificuldades inerentes ao método de recordatório de 24 horas, como erros de estimativa das quantidades ingeridas, quanto pela inexistência de valores da concentração de selênio nas tabelas brasileiras de composição de alimentos. O *software* utilizado para o cálculo das dietas foi alimentado com dados de tabelas norte-americanas e com dados de um trabalho brasileiro que analisou a concentração de selênio de algumas frutas, arroz, feijão, macarrão, farinhas, biscoitos, pães, carnes, aves e peixes (FERREIRA, 2002).

Além disso, sabe-se que as diferenças de concentração de selênio nos alimentos, de acordo com os solos onde foram cultivados, poderia promover uma ingestão adequada de selênio para algumas populações e inadequadas para outras. Os valores de ingestão de selênio apresentados, portanto, poderiam ser diferentes, caso houvesse sido utilizados dados da concentração de selênio em alimentos cultivados no solo cearense. Apesar disso, a dificuldade em estimar a ingestão desse mineral continuaria existindo, visto que não seria possível rastrear de forma rigorosa a origem dos alimentos consumidos pelos participantes.

A ingestão de selênio apresentou correlação positiva com o consumo de energia ($r=0,438$; $p<0,0001$) e de proteína ($r=0,530$; $p<0,0001$). Houve diferença entre os gêneros para o selênio ingerido ($p=0,015$).

Os alimentos de origem animal são a maior contribuição de selênio na alimentação, com exceção da castanha-do-brasil, que é considerada o alimento mais rico em selênio conhecido (BAYOUMY-EL, 2001; COMBS JR, 2001; FAIRWEATHER-TAIT et al., 2011). Uma vez que esses alimentos, em sua maioria, são também as maiores fontes de proteínas da alimentação, consegue-se explicar a correlação encontrada entre o consumo de proteínas e o de selênio. Do mesmo modo, quanto maior for o consumo energético, maior será a ingestão de possíveis fontes do mineral, justificando assim a correlação encontrada entre o consumo energético e o de selênio.

5.4 Biomarcadores do estado nutricional relativo ao selênio

A avaliação do estado nutricional dos indivíduos quanto ao selênio pode ser determinada em diversos tecidos e fluidos biológicos, como sangue, cabelo, unhas e urina (NÈVE, 1991; SHEENAN; HALLS, 1999). Neste estudo, foram utilizados os marcadores sanguíneos de selênio plasmático, selênio eritrocitário e atividade eritrocitária total da GPx. Na Tabela 5 estão representados os resultados encontrados de cada um dos marcadores bioquímicos avaliados.

Tabela 5. Concentrações de selênio (Se) plasmático e eritrocitário e atividade eritrocitária total da GPx. São Paulo, 2013.

	Se plasmático (µg/L)	Se eritrocitário (µg/L)	GPx (U/gHb)
Média	62,6	101,5	38,6
Mediana	63,4	100,3	36,5
DP ¹	11,5	21,1	13,7
V mín ²	31,9	51,8	13,1
V máx ²	97,9	202,2	82,8

¹ DP: desvio padrão; ² V mín: valor mínimo; ³ V máx: valor máximo

Valores de referência:

Selênio plasmático: 60 a 120 µg/L e Selênio eritrocitário: 90 a 190 µg/L (VANDAEL; DEELSTRA, 1993); GPx: de 27,5 a 73,6 U/g Hb (Kit Comercial Ransel; Randox)

O selênio plasmático é considerado o biomarcador mais acessível para avaliação do *status* do mineral, sendo por isso amplamente utilizado. Ele permite avaliar as mudanças em curto prazo, por responder rapidamente e de forma bastante sensível ao aumento ou diminuição da ingestão de selênio. Essa resposta, no entanto, pode ser influenciada por fatores como idade, estado fisiológico do indivíduo e forma de selênio ingerida (ASHTON et al., 2009; NÈVE, 1991; THOMSON, 2004; VANDAEL; DEELSTRA, 1993).

Há vários intervalos de referência propostos por diferentes autores para analisar os resultados de concentração de selênio no plasma. Utilizando-se os valores propostos por Vandaeel & Deelstra (1993), de 60 a 120 µg/L, 38,1% dos participantes apresentariam concentrações reduzidas e 61,9% apresentariam concentrações adequadas (Figura 8).

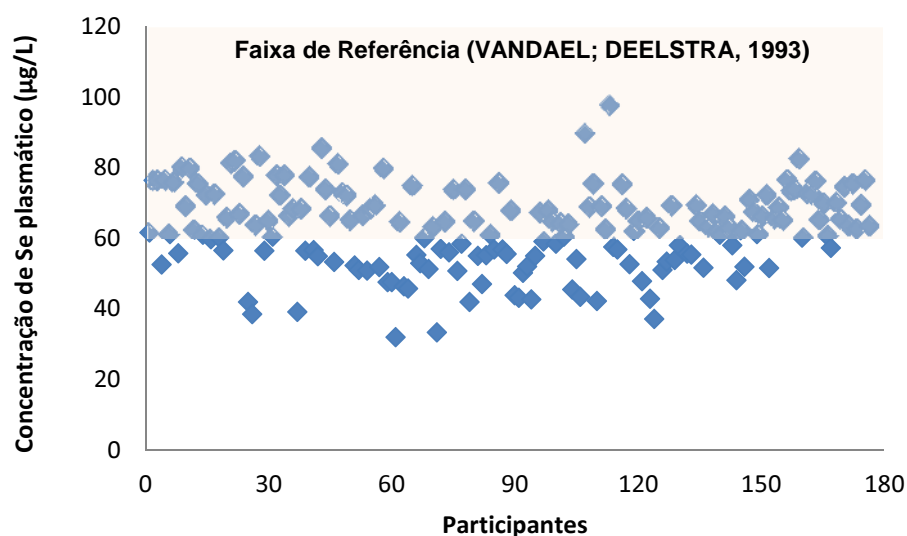


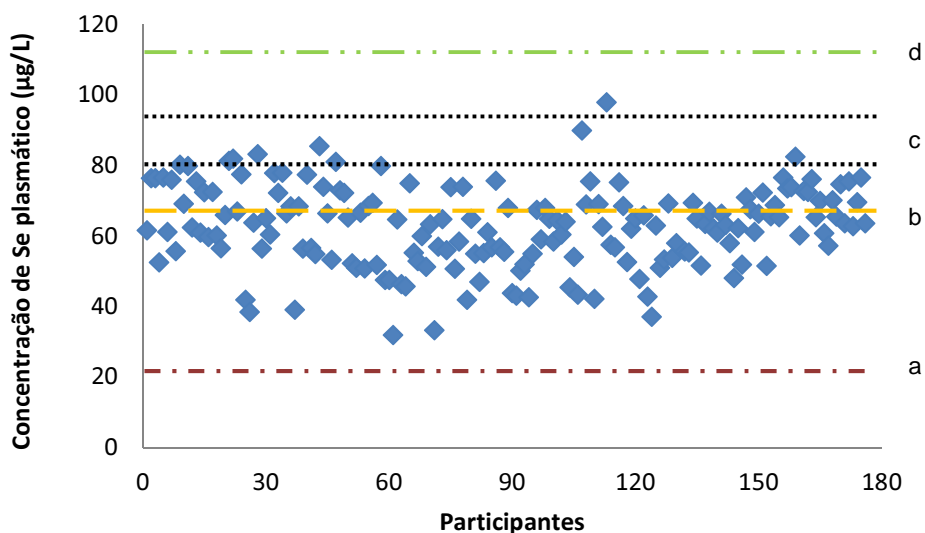
Figura 8. Distribuição da concentração de selênio plasmático dos participantes de acordo com valores de referência de Vandael & Deelstra (1993). São Paulo, 2013.

Alegria *et al.* (1996) propuseram um intervalo de referência de 53 a 109 µg/L para a concentração plasmática de selênio, valores próximos ao de Vandael & Deelstra (1993). Como o valor mínimo de 53 µg/L é um pouco abaixo de 60 µg/L, ao utilizar esse intervalo o percentual de participantes com concentrações reduzidas diminuiu para 20,5% e o de participantes com concentrações adequadas aumentou para 79,5%.

Há ainda o ponto de corte de 70 µg/L proposto por Nève (1995). Estabelecendo-se esse valor como mínimo necessário para a concentração adequada de selênio no plasma, o percentual de inadequação dos participantes em aumentaria consideravelmente para 74,4%. Isso pode ser explicado pelo fato de que a média encontrada para concentração de selênio plasmático foi de 62,6 µg/L, com a maioria dos participantes apresentando resultado bioquímico próximo a essa média. Assim, ao utilizar o valor de 70 µg/L como valor mínimo de adequação, muitos participantes que apresentaram resultados entre 60 e 70 µg/L seriam considerados inadequados.

De acordo com Thomson (2004), não existe intervalo de referência único estabelecido para os valores de selênio nos compartimentos sanguíneos, por conta das enormes variações no estado nutricional quanto ao mineral que ocorrem mundialmente. Sendo assim, esse autor propôs valores mínimos no plasma para o não surgimento da doença de Keshan (21 µg/L), para a otimização da atividade das deiodinases (maior que 65 µg/L), para a maximização da atividade da GPx e da selenoproteína P (entre 80 e 95 µg/L) e para a proteção contra alguns tipos de câncer (maior que 115 µg/L). Todos os participantes do estudo apresentaram

valores acima de 21 $\mu\text{g/L}$, 43,2% apresentaram concentrações no plasma acima de 65 $\mu\text{g/L}$, apenas 5,1% apresentaram concentração plasmática entre 80 e 95 $\mu\text{g/L}$ e nenhum apresentou concentração maior que 115 $\mu\text{g/L}$ (Figura 9).



- ^a Ponto de corte para o não surgimento da doença de Keshan (21 $\mu\text{g/L}$)
- ^b Ponto de corte para a otimização da atividade das deiodinases (> 65 $\mu\text{g/L}$)
- ^c Ponto de corte para a maximização da atividade da GPx e da selenoproteína P (80 a 95 $\mu\text{g/L}$)
- ^d Ponto de corte para a proteção contra alguns tipos de câncer (> 115 $\mu\text{g/L}$)

Figura 9. Distribuição da concentração de selênio plasmático dos participantes de acordo com os pontos de corte propostos por Thomson (2004). São Paulo, 2013.

No Brasil, dois trabalhos encontrados que avaliaram homens e mulheres não portadores de doenças crônicas foram o de Maia (2008), em seu grupo controle, e o de Donadio (2011). O primeiro encontrou média de concentração de selênio plasmático 66,5 $\mu\text{g/L}$ para grupo controle de São Paulo e de 57,6 $\mu\text{g/L}$ para o grupo controle do Ceará e o segundo encontrou, em seu grupo de 124 adultos residentes no município de São Paulo, média de 54,1 $\mu\text{g/L}$. Esses valores não foram muito diferentes do encontrado pelo presente estudo, que foi de 62,6 $\mu\text{g/L}$. Coutinho (2003), que avaliou o efeito da suplementação de castanha-do-brasil em praticantes de capoeira residentes no município de São Paulo, encontrou média de 78,7 $\mu\text{g/L}$ para o selênio no plasma, antes do início da suplementação. Bortoli (2009), em seu trabalho com mulheres saudáveis residentes em área de exposição ao mercúrio, encontrou concentração média de selênio no plasma de 81,7 $\mu\text{g/L}$ para as mulheres residentes em São Paulo/SP, de 60,7 $\mu\text{g/L}$ para as residentes em Cubatão/SP e de 101,8 $\mu\text{g/L}$ para as

residentes em Novo Airão/AM. Essa média elevada encontrada nas mulheres de Novo Airão é justificada pelo fato de a população do estado do Amazonas apresentar como hábito o consumo regular de castanha-do-brasil.

Os estudos que avaliam o estado nutricional relativo ao selênio de populações em outros países utilizam tanto dados no soro, quanto no plasma, porém o número de estudos avaliando soro é maior. As comparações dos resultados deste trabalho em relação ao selênio plasmático foram realizadas somente com trabalhos que também avaliaram plasma. Foram encontrados trabalhos que avaliaram esse biomarcador em indivíduos saudáveis em países como China, Espanha, Bélgica, Polônia, Turquia, França, Holanda e Estados Unidos.

Na China, Xia e colaboradores (2005) realizaram um estudo com adultos em uma região endêmica da doença de Keshan e encontraram valores médios para selênio plasmático de 21 µg/L em mulheres e 23,2 µg/L em homens, os quais são valores característicos de populações que apresentam a doença.

Na Espanha, Adame e colaboradores (2012) analisaram a concentração de selênio plasmático de 84 adultos saudáveis da cidade de Granada, que resultou em média de 76,6 µg/L.

Na Bélgica, uma metanálise realizada por Cauwenberg e colaboradores (2004) reuniu estudos realizados nas regiões de Flandres e de Bruxelas e encontrou valores médios para a concentração de selênio no plasma variando de 83 a 97 µg/L.

Na Polônia, Zachara e colaboradores (2001) encontraram, em um grupo de 58 indivíduos saudáveis, média de concentração de selênio plasmático de 52,5 µg/L. Na Turquia, em grupo de 24 indivíduos, a média foi de 82,2 µg/L (BOR et al., 1999). Na França, os resultados no plasma indicaram média de 85,2 µg/L em um grupo com 498 homens e mulheres (COUDRAY et al., 1997). Por fim, o estudo realizado na Holanda, com 84 pessoas, foi o que apresentou os valores mais elevados para selênio no plasma, com média de 106,8 µg/L (KOK et al., 1989). Os dados dos estudos na Polônia, Turquia, França e Holanda são todos referentes a grupos controle de estudos que avaliaram a correlação do selênio com doenças cardiovasculares.

Nos Estados Unidos, uma pesquisa que avaliou as concentrações de selênio plasmático de 106 homens e 155 mulheres saudáveis do estado de Dakota do Norte encontrou média de concentração do mineral no plasma de 142 µg/L (COMBS JR et al., 2011). Outro estudo realizado no mesmo país avaliou diferenças nas concentrações de selênio entre brancos e negros. A média de concentração de

selênio plasmático no grupo de 161 indivíduos negros (82 homens e 69 mulheres) foi de 129 $\mu\text{g/L}$, enquanto a média no grupo de 134 indivíduos brancos (86 homens e 89 mulheres) foi de 134 $\mu\text{g/L}$ (RICHIE JR et al., 2011).

A média de concentração de selênio plasmático encontrada pelo presente estudo (62,6 $\mu\text{g/L}$) apresentou-se bem distante dos valores característicos para a doença de Keshan encontrados na população avaliada na China e também bem abaixo do valor encontrado para a população holandesa e americana, apresentando-se mais similar aos resultados dos estudos realizados na Espanha e na Polônia.

A concentração de selênio eritrocitário oferece boa sensibilidade para avaliar mudanças no estado nutricional quanto ao mineral em longo prazo, uma vez que responde mais lentamente a mudanças em comparação ao plasma. Essa resposta mais lenta está relacionada com o tempo de meia vida das hemácias, que é de aproximadamente 120 dias (ALFTHAN et al., 1991; NÈVE, 1991; VANDAEL; DEELSTRA, 1993).

Assim como para selênio plasmático, há diferentes valores de referência para a concentração de selênio eritrocitário. Vandael & Deelstra (1993) propuseram o intervalo de 90 a 190 $\mu\text{g/L}$. Utilizando-se essa faixa, a maior parte dos participantes (68,2%) apresentaria-se em adequação, 31,3% apresentariam inadequação e somente 0,6% estaria acima do valor (Figura 10).

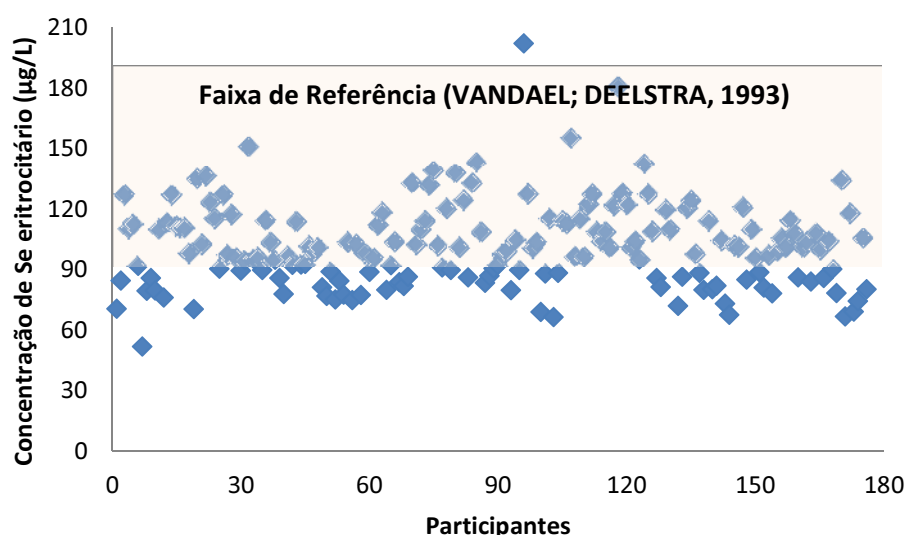


Figura 10. Concentração de selênio eritrocitário dos participantes. São Paulo, 2013.

Já Ortuño (1997) propôs um valor de referência para selênio eritrocitário de 60 a 120 µg/L. Aplicando-se esse intervalo, que é bem menor do que o de Vandael & Deelstra, somente um participante do estudo (0,6%) apresentaria inadequação.

A média de concentração de selênio eritrocitário dos participantes do estudo foi de 101,5 µg/L. Esse valor foi quase o dobro do encontrado por Donadio (2011) para indivíduos paulistanos, que foi de 56,2 µg/L. Já em relação ao estudo de Maia (2008), esse valor apresentou-se entre a concentração de selênio eritrocitária do grupo controle de São Paulo (média de 80 µg/L) e a do Ceará (média de 122,4 µg/L), havendo diferença estatística significativa entre os dois grupos controle do estudo. Bortoli (2009), para selênio eritrocitário, encontrou média de 86,3 µg/L para as mulheres residentes em São Paulo/SP, de 85,9 µg/L para as mulheres de Cubatão/SP e de 199,8 µg/L para as mulheres que residiam em Novo Airão/AM.

A existência de dados de selênio eritrocitário em estudos ao redor do mundo é ainda mais escassa. Além disso, alguns trabalhos não publicam resultados expressos em unidades de hemoglobina, o que impossibilita a comparação com nossos resultados. Foram encontrados trabalhos que analisaram o mineral no eritrócito em trabalhos publicados na China, Espanha, Estados Unidos. Na China, foram avaliados indivíduos residentes em área de solo rico em selênio, que participaram como grupo controle de um estudo com hepatite C, sendo encontrada concentração média nos eritrócitos de 131,1 µg/L (KO et al., 2005). Na Espanha, a média encontrada para indivíduos da região de Granada foi de 104,6 µg/L (ADAME, 2012). Nos Estados Unidos, foram encontrados valores elevados de concentração de selênio nos eritrócitos de mulheres que viviam na zona rural (203 µg/L) e na zona urbana (237 µg/L), no estado de Ohio (SNOOK et al., 1983).

Não foi observada correlação entre as concentrações de selênio plasmático e eritrocitário no presente estudo. Também não houve correlação entre esses biomarcadores e o selênio ingerido. Ao considerar o gênero, foi encontrada diferença significativa para o selênio plasmático ($p=0,007$) entre os homens e as mulheres, sendo os valores das médias maiores para os homens. A idade dos participantes correlacionou-se positivamente com a concentração de selênio plasmático ($p=0,011$; $r=0,191$) e eritrocitário ($p=0,043$; $r=0,153$).

A utilização da atividade eritrocitária da GPx para correlacionar com o estado nutricional é satisfatória para indivíduos com deficiência em selênio, uma vez

que a atividade dessa enzima atinge um platô a partir da ingestão diária de 60 a 80 $\mu\text{g}/\text{dia}$ do mineral (ALFTHAN et al., 1991; NÈVE, 1991).

A média da atividade eritrocitária total da GPx foi de 38,6 U/g Hb, não sendo encontrada correlação com a concentração de selênio eritrocitário ($p=0,124$; $r=0,117$). Também não foram encontradas diferenças na atividade da enzima de acordo com o gênero ($p=0,939$).

A maioria dos participantes (80,7%) encontrava-se dentro da faixa de referência recomendada pelo kit utilizado para avaliação da atividade enzimática da GPx, 18,2% apresentaram-se abaixo dessa faixa e 1,1% apresentaram atividade da enzima superior aos valores do intervalo (Figura 11).

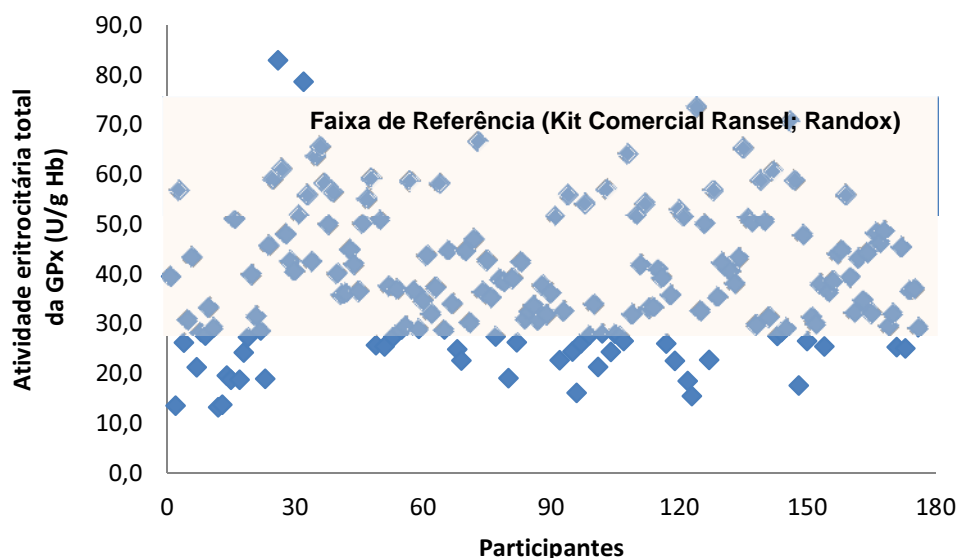


Figura 11. Atividade eritrocitária total da GPx dos participantes. São Paulo, 2013.

Comparando o resultado da atividade da GPx com os valores encontrados por outros estudos brasileiros, a média do presente estudo apresentou-se menor que as de Donadio (2011), Maia (2008) e Bortoli (2009) para as mulheres residentes em Novo Airão/AM. Donadio (2011) encontrou média de 40,1 U/g Hb em paulistanos, Maia (2008) encontrou médias de 47,7 U/g Hb para adultos do grupo controle de São Paulo e de 52,8 U/g Hb no grupo controle do Ceará e Bortoli (2009) encontrou média de 73,3 U/g Hb para as mulheres do município amazonense. O valor da atividade da GPx deste estudo mostrou-se similar aos valores encontrados por Bortoli (2009) para as mulheres residentes em São Paulo (37,1 U/g Hb) e Cubatão (38,2 U/g Hb).

São também escassos na literatura os resultados sobre atividade eritrocitária da GPx em trabalhos realizados em outros países. Os estudos que avaliam a atividade da enzima, muitas vezes, utilizam a GPx plasmática, dificultando mais uma vez as comparações com os resultados deste trabalho. Foram encontrados dados de atividade eritrocitária da GPx em mulheres saudáveis que faziam parte do grupo controle de um estudo iraniano sobre câncer de mama (MORADI et al., 2008) e apresentaram atividade média de 20,3 U/g Hb. Em um estudo realizado no Kuwait com obesos, a média de atividade da GPx do grupo controle, formado por homens e mulheres adultos, foi de 98,3 U/g Hb, valor bastante elevado em comparação ao nosso resultado (OLUSI, 2002). No estudo realizado na China com pacientes com hepatite C, os indivíduos do grupo controle apresentaram média de atividade eritrocitária da GPx de 51,3 U/g Hb (KO et al., 2005).

Em virtude de resultados de estudos anteriores, que demonstraram que solo do Ceará era mais rico em selênio do que o de outros estados do país, como o estudo citado anteriormente que avaliou a concentração do mineral em cultivares de feijões, este trabalho esperava encontrar valores de concentração de selênio mais elevados. Os resultados para selênio eritrocitário foram melhores, no sentido de indicar que pode haver um melhor estado nutricional relativo ao selênio na população cearense, do que os de selênio plasmático. Ainda assim, foram inferiores aos de outros estudos com populações que apresentavam o mesmo perfil dos participantes deste estudo.

Sabe-se que, na atualidade, a procedência dos alimentos consumidos por uma população residente em determinada localidade não é exclusivamente produzida naquele lugar. Há uma enorme globalização da indústria alimentícia, que fornece gêneros para outras regiões ou até mesmo outros países, distantes do local de produção. Para afirmar de forma mais assertiva que o solo do Ceará produz alimentos com maiores concentrações de selênio, seria necessário analisar vários itens alimentares, para compará-los com os produzidos em outras regiões e, assim, classificá-los quanto a maior ou menor concentração do mineral.

Não existem muitos trabalhos no Brasil que tenham avaliado marcadores sanguíneos de selênio em populações adultas não doentes. A maioria dos trabalhos encontrados analisou o perfil nutricional em relação ao mineral em populações com diabetes, insuficiência renal, obesidade, doença de Alzheimer, doenças tireoidianas, entre outras. Isso demonstra que não se conhece bem a situação da população brasileira sobre a adequação quanto ao mineral, fato que justifica a importância deste

estudo por gerar dados sobre o estado nutricional relativo ao selênio de indivíduos residentes de um estado do país. Com um maior número de estudos no Brasil, no futuro será possível o estabelecimento de valores de referência específicos para a população brasileira.

5.5 SNP Pro198Leu (rs1050450) no gene da GPx1

Ao avaliar a presença do SNP Pro198Leu (rs1050450) no gene que codifica para a enzima GPx 1 entre os 176 participantes do estudo, encontrou-se 96 indivíduos com genótipo selvagem, ou seja, homozigotos para prolina, 67 indivíduos com genótipo heterozigoto prolina/leucina e 13 indivíduos com genótipo homozigoto para leucina (Tabela 6). Os resultados da genotipagem estavam de acordo com o equilíbrio de Hardy Weinberg, o qual determina que as frequências alélicas devem permanecer constantes ao longo das gerações, caso não sejam interferidas por nenhum fator evolutivo. As frequências esperadas, no entanto, foram de 95 indivíduos com genótipo selvagem, 68 indivíduos heterozigotos e 12 indivíduos homozigotos para o polimorfismo. A frequência de variação alélica encontrada foi de 0,26.

Tabela 6. Distribuição do SNP Pro198Leu (rs1050450) no gene que codifica para a GPx 1 nos participantes do estudo. São Paulo, 2013.

Genótipos códon 198 da GPx 1	n (%)
Pro/Pro	96 (54,5%)
Pro/Leu	67 (38,1%)
Leu/Leu	13 (7,4%)

As frequências do SNP Pro198Leu no gene da GPx 1 reveladas por diversos estudos têm-se mostrado semelhantes. Fosberg, De Faire e Morgenstern (1999) encontraram, em análises com 25 indivíduos suecos, 52% dos indivíduos homozigotos para prolina, 36% dos indivíduos heterozigotos e 12% dos indivíduos homozigotos para leucina. Em 2000, Fosberg e colaboradores determinaram a frequência de alelos para esse polimorfismo em

duas populações: uma sueca e outra finlandesa. Na população sueca, formada por 101 indivíduos infartados e 214 indivíduos do grupo controle, a distribuição do genótipo para os indivíduos do grupo caso foi de 55% homozigotos para prolina, 38% heterozigotos e 7% homozigotos para leucina e para os indivíduos do grupo controle essa distribuição foi de 53%, 40% e 7%, respectivamente. Já na população finlandesa, composta por 66 indivíduos, foi encontrada uma distribuição para o genótipo de 35% homozigotos para prolina, 48% heterozigotos e 17% homozigotos para leucina.

No Brasil, quatro trabalhos geraram dados acerca da frequência desse polimorfismo no município de São Paulo/SP. Nishimura (2010), em estudo com pacientes com câncer da cavidade oral e orofaringe, encontrou, para o grupo caso de 175 indivíduos, 88 (50%) com genótipo selvagem, 75 (43%) heterozigotos para o polimorfismo e 12 (7%) homozigotos para o polimorfismo. Em seu grupo controle, composto por 203 indivíduos, a distribuição encontrada foi de 103 (51%) com genótipo selvagem Pro/Pro, 87 (43%) com genótipo Pro/Leu e 13 (6%) com genótipo Leu/Leu. Cominetti e colaboradores (2011a), em seu estudo com 37 mulheres obesas brasileiras, encontraram 18 (49%) homozigotas para prolina, 14 (38%) heterozigotos e 5 (13%) homozigotas para leucina. Donadio (2011), em seu trabalho com 124 adultos saudáveis, encontrou 61 (49%) indivíduos Pro/Pro, 59 (47%) Pro/Leu e apenas 4 (3%) Leu/Leu. Cardoso e colaboradores (2012), no seu grupo caso de 28 idosos com doença de Alzheimer, encontraram 21 (75%) com genótipo selvagem, 4 (14%) heterozigotos e 3 (11%) com a presença de dois alelos variantes, e no grupo controle de 29 idosos, encontraram 21 (72%) com genótipo selvagem, 4 (14%) heterozigotos e 4 (14%) com a presença de pelo menos um alelo variante. As comparações das frequências desses trabalhos com a frequência encontrada pelo presente estudo estão dispostas na Tabela 7.

Tabela 7. Comparação das frequências genótípicas para o SNP Pro198Leu (rs1050450) no gene que codifica para a GPx 1 encontradas neste estudo com as encontradas por estudos em populações de São Paulo. São Paulo, 2013.

	Ceará		São Paulo				
	n=176	n=37	Donadio, 2011 n=124	Cardoso et al., 2012		Nishimura, 2010	
				Caso n=28	Controle n=29	Caso n=175	Controle n=203
Pro/Pro	55%	49%	49%	75%	72%	50%	51%
Pro/Leu	38%	38%	48%	14%	14%	43%	43%
Leu/Leu	7%	13%	3%	11%	14%	7%	6%

Outro estudo brasileiro, conduzido por Hiragi e colaboradores (2011), avaliou a frequência do polimorfismo em 304 indivíduos pertencentes a três grupos étnicos diferentes. No grupo de indígenas, composto por 60 adultos, 57 (95%) tinham genótipo selvagem, 2 (3%) eram heterozigotos e 1 (2%) apresentavam dois alelos variantes. No grupo de afrodescendentes, composto por 72 indivíduos, encontrou 51 (71%) de genótipo selvagem, 16 (22%) heterozigotos e 5 (7%) homozigotos para o polimorfismo. O terceiro grupo, formado por 172 indivíduos residentes no Distrito Federal, apresentou 80 (47%) de genótipo selvagem, 69 (40%) heterozigotos e 23 (13%) homozigotos para o polimorfismo.

Assim como os resultados encontrados acima por Hiragi et al. (2011) para a população indígena, estudos que avaliaram a frequência do polimorfismo Pro198Leu no gene da GPx 1 em populações asiáticas têm revelado prevalências significativamente menores do alelo variante, mostrando que esse polimorfismo parece variar em relação à etnia (KUZUYA et al., 2008; LEI et al., 2009). Por esse motivo, um dos critérios de inclusão deste estudo foi a não descendência oriental, o que não dificultou a seleção dos participantes, visto que a presença de descendentes de orientais no estado do Ceará é bastante rara.

Conforme já comentado anteriormente, a população cearense tem origem principalmente da miscigenação entre índios e europeus, tendo sido colonizada por portugueses. Não houve chegada de colonos ao Ceará no final do

século XIX e início do século XX, como ocorreu nos estados do sudeste e sul do país, que receberam diversos imigrantes italianos, alemães, holandeses e japoneses para trabalhar em lavouras, após a abolição dos escravos no Brasil (COSTA, 1999).

A origem genética da população brasileira, portanto, é fruto da miscigenação. Apesar disso, apresenta uma uniformidade maior que o esperado, segundo estudo realizado por Pena e colaboradores (2011). Esses pesquisadores avaliaram o que eles denominaram de “ascendência total” de 934 brasileiros de diferentes raças, residentes em quatro regiões do país, exceto a região Centro-Oeste. Foram analisados nesses participantes 40 polimorfismos de inserção-deleção. Os genótipos encontrados foram utilizados para estimar os componentes europeus, africanos e ameríndios dos indivíduos. Os resultados demonstraram que a ancestralidade das populações de diferentes regiões do Brasil são mais semelhantes do que se imaginava anteriormente.

A partir da distribuição genotípica encontrada na população do presente estudo, fez-se a análise comparativa das variáveis entre o genótipo. Conforme apresentado na Tabela 7, não houve diferença nas concentrações de selênio no plasma e eritrócitos entre os grupos. Com relação à atividade da GPx nos eritrócitos, observou-se uma tendência ($p=0,051$) nos valores encontrados entre os genótipos. Ao avaliar a atividade da GPx pelo pós-teste de Tukey, encontrou-se diferença significativa entre os grupos Pro/Pro e Pro/Leu ($p=0,04$).

Tabela 8. Concentrações de selênio (Se) plasmático e eritrocitário e atividade eritrocitária total da GPx, de acordo com o genótipo para o polimorfismo Pro198Leu (rs1050450) no gene que codifica para a GPx 1. São Paulo, 2013.

Variáveis	Pro/Pro (n=96)	Pro/Leu (n=67)	Leu/Leu (n=13)	p*
Se plasmático (µg/L)	62,6	62,2	64,4	0,830
Se eritrócitos (µg/L)	99,6	103,7	103,7	0,450
GPx nos eritrócitos (U/g Hb)	40,8 ^a	35,5 ^b	38,2 ^{ab}	0,051

*ANOVA entre os grupos; as letras diferem entre si pelo teste de Tukey

Valores de referência: Selênio plasmático: 60 a 120 µg/L e Selênio eritrocitário: 90 a 190 µg/L (VANDAEL; DEELSTRA, 1993); GPx: de 27,5 a 73,6 U/g Hb (Kit Comercial Ransel; Randox)

Foi observada correlação positiva entre o selênio eritrocitário e a atividade da GPx no grupo Pro/Pro ($p=0,41$; $r=0,210$) (Figura 12).

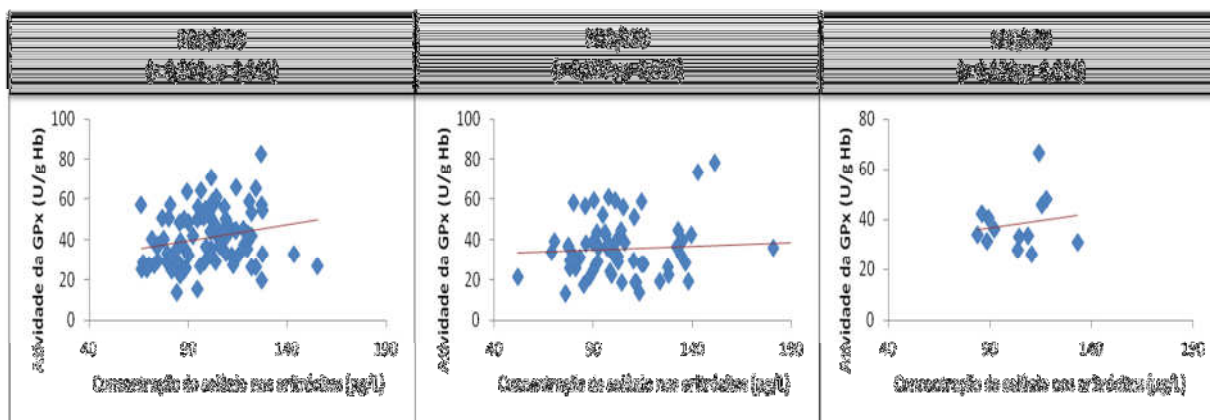


Figura 12. Correlação entre a atividade eritrocitária total da GPx e a concentração de selênio nos eritrócitos, de acordo com os genótipos para o polimorfismo Pro198Leu (rs1050450) no gene que codifica para a GPx 1. São Paulo, 2013.

Para aumentar a força dos testes estatísticos, os participantes com presença do alelo variante Leu foram reunidos em um único grupo para comparação com os indivíduos de genótipo selvagem. Foram encontradas diferenças entre os dois grupos para as médias de atividade eritrocitária total da GPx (Tabela 8).

Tabela 9. Concentrações de selênio (Se) plasmático e eritrocitário e atividade eritrocitária total da GPx nos grupos selvagem e com presença do alelo variante para o polimorfismo Pro198Leu (rs1050450) no gene que codifica para a GPx 1. São Paulo, 2013.

Variáveis	Pro/Pro (n=96)	Pro/Leu + Leu/Leu (n=80)	p*
Se plasmático (µg/L)	62,6	62,6	0,965
Se eritrócitos (µg/L)	99,6	103,7	0,206
GPx nos eritrócitos (U/g Hb)	40,8	36,0	0,019

* Teste T

Valores de referência: Selênio plasmático: 60 a 120 µg/L e Selênio eritrocitário: 90 a 190 µg/L (VANDAEL; DEELSTRA, 1993); GPx: de 27,5 a 73,6 U/g Hb (Kit Comercial Ransel; Randox)

Os resultados foram analisados ainda segundo o gênero, comparando-se grupo selvagem e grupo com presença do alelo variante em homens e mulheres. Encontrou-se diferença entre as médias de atividade eritrocitária da

GPx segundo o genótipo apenas para as mulheres ($p=0,046$). Para as demais variáveis, não foram encontradas diferenças entre os gêneros.

Não são comuns estudos que associem o polimorfismo Pro198Leu com biomarcadores do estado nutricional relativos ao selênio em indivíduos saudáveis, havendo maior número de trabalhos publicados em populações de doentes, principalmente com câncer. Dessa maneira, as comparações dos resultados deste trabalho foram realizadas tanto com estudos em saudáveis, quanto em doentes.

Donadio (2011) encontrou correlação entre selênio plasmático e eritrocitário nos grupos Pro/Pro e Pro/Leu, tendo observado ainda correlação entre a concentração de selênio eritrocitário e a atividade da GPx no grupo Pro/Leu. Separando seus resultados por gênero, foram reveladas diferenças para as mulheres, entre os genótipos, nas médias de atividade da GPx, coincidindo com o observado pelo presente estudo. Muitos trabalhos não costumam considerar o gênero quando avaliam a relação entre o genótipo para o polimorfismo Pro198Leu e os biomarcadores para selênio, no entanto os achados deste estudo, corroborados pelos de Donadio (2011), indicam que a influência do gênero é um importante fator a ser considerado em estudos sobre o polimorfismo Pro198Leu.

Cominetti et al. (2011a) não observaram diferenças nas concentrações de selênio plasmático, selênio eritrocitário e atividade da GPx entre os genótipos em ambas as fases de seu estudo (pré e pós suplementação de castanha-do-brasil), porém encontraram correlação entre o selênio eritrocitário e a atividade da GPx para o grupo Pro/Pro, em ambas as fases. Assim como Cominetti et al. (2011a), Cardoso e colaboradores (2012) também observaram correlação entre o selênio eritrocitário e a atividade da GPx para o grupo Pro/Pro, tanto nos doentes quanto nos controles. A mesma correlação foi apontada ainda pelos estudos de Jablonska et al. (2009), Hu e Diamond (2003) e Karunashinghe et al. (2011), corroborando com os achados deste trabalho de que a presença do alelo Leu torna os indivíduos menos responsivos a um aumento na ingestão de selênio.

Outro fato relevante quando se estuda o polimorfismo Pro198Leu é o efeito do alelo Leu na atividade da enzima GPx, que apresenta-se reduzida nos indivíduos com alelo variante, conforme encontrado pelo presente estudo e por outros autores (HANSEN et al., 2009; RAVN-HAREN et al., 2006). Tal achado

trata-se de mais uma evidência do efeito funcional desse polimorfismo pela diminuição da atividade enzimática da enzima GPx, o que pode, por sua vez, afetar o sistema de proteção antioxidante dos indivíduos que apresentam o alelo Leu em seu genótipo. Em alguns estudos, no entanto, não houve diferenças na atividade da enzima de acordo com o genótipo (ARSOVA-SARAFINOVSKA et al., 2008; ERDEM et al., 2012; FOSBERG et al., 2000), demonstrando que o efeito do polimorfismo Pro198Leu deve continuar sendo investigado em diferentes populações.

6 CONCLUSÃO

O presente estudo pode fornecer importantes dados sobre o estado nutricional relativo ao selênio de uma população adulta residente no município de Fortaleza e sua relação com o polimorfismo Pro198Leu no gene que codifica para a GPx 1. De acordo com os resultados encontrados, a população apresentou estado nutricional relativo ao selênio adequado, segundo avaliação dos biomarcadores de concentração de selênio plasmático e eritrocitário e atividade da enzima GPx. Ao avaliar o efeito do polimorfismo Pro198Leu sobre os biomarcadores, foram encontradas diferenças para a atividade da GPx entre o grupo selvagem e o grupo que apresentava pelo menos um alelo variante, além de correlação entre a concentração de selênio nos eritrócitos e a atividade da enzima no grupo selvagem.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAME, E. M.; FLOREA, D.; PEREZ, L.S.; LÓPEZ, J. M.; LÓPEZ-GONZALEZ, B.; CRUZ, A. P.; DEL POZO, E. P. Deficient selenium status of a healthy adult Spanish population. **Nutrición Hospitalaria**, v. 27, n. 2, p. 524-528, 2012.

AHN, J.; GAMMON, M. D.; SANTELLA, R. M.; GAUDET, M. M.; BRITTON, J. A.; TEITELBAUM, S. L.; TERRY, M. B.; NEUGUT, A. I.; AMBROSONE, C. B. No association between glutathione peroxidase Pro198Leu polymorphism and breast cancer risk, **Cancer Epidemiology Biomarkers and Prevention**, v. 14, p. 2459-2461, 2005.

ALEGRÍA, A.; BARBERÁ, R.; CLEMENTE, G.; FARRÉ, R.; GARCÍA, M. J.; LAGARDA, M. J. Selenium and glutathione peroxidase reference values in whole blood and plasma of a reference population living in Valencia, Spain. **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology**, v. 10, n. 4, p. 223-228, 1996.

ALFTHAN, G.; ARO, A.; ARVILOMMI, H.; HUTTUNEN, J. K. Selenium metabolism and platelet glutathione peroxidase activity in healthy Finnish men: effects of selenium yeast selenite and selenate. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 53, p. 120-125, 1991.

ANDERSON, J. J. B. Minerais. In: MAHAN, L. K.; ESCOTT-STUMP, S. **Alimentos, Nutrição & Dietoterapia**. São Paulo: Editora ROCA; 2005. p.115-55.

ARSOVA-SARAFINOVSKA, Z.; MATEVSKA, N.; EKEN, A.; PETROVSKI, D.; BANEV, S.; DZIKOVA, S.; et al. Glutathione peroxidase 1 (GPX1) genetic polymorphism, erythrocyte GPX activity, and prostate cancer risk. **International Urology and Nephrology**, v. 41, n. 1, p. 63-70, 2009.

ARTHUR, J. R. The glutathione peroxidases. **Cellular and Molecular Life Sciences**, v. 57, p. 1825–1835, 2000.

ASHTON, K.; HOOPER, L.; HARVEY, L. J.; HURST, R.; CASGRAIN, A.; FAIRWEATHER-TAIT, S. J. Methods of assessment of selenium status in humans: a systematic review. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 89, p. 2025S-2039S, 2009.

BAYOUMY-EL, K. The preventive role of selenium on genetic damage and on cancer: review. **Mutation Research**, v. 75, p. 123-139, 2001.

BECK, M. A.; LEVANDER, O. A.; HANDY, J. Selenium deficiency and viral infection. **The Journal of Nutrition**, v. 133, n. 5, p. 1463S-1467S, 2003.

BECKETT, J. M.; BALL, M. J. Marginal selenium status in northern Tasmania. **British Journal of Nutrition**, v. 106, n. 5, p. 718-724, 2011.

BERGER, M. M. Can Oxidative Damage Treated Nutritionally? **Clinical Nutrition.**, v. 24, n. 2, p. 172-183, 2005.

BHATTI, P.; STEWART, P. A.; HUTCHINSON, A.; ROTHMAN, N.; LINET, M. S.; INSKIP, P. D.; RAJARAMAN, P. Lead exposure, polymorphisms in genes related to oxidative stress and risk of adult brain tumors. **Cancer Epidemiology Biomarkers and Prevention**, v. 18, n. 6, p. 1841-1848, 2009.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Análise de Situação de Saúde. **Plano de ações estratégicas para o enfrentamento das doenças crônicas não transmissíveis (DCNT) no Brasil 2011-2022**. Brasília: Ministério da Saúde, 2011a. (Série B. Textos Básicos de Saúde).

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Secretaria de Gestão Estratégica e Participativa. **Vigitel Brasil 2010: vigilância de fatores de risco e proteção para doenças crônicas por inquérito telefônico**. Brasília: Ministério da Saúde, 2011b. (Série G. Estatística e Informação em Saúde).

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Análise de Situação de Saúde. **Documento de diretrizes para o cuidado das pessoas com doenças crônicas nas Redes de Atenção à Saúde e nas linhas de cuidado prioritárias**. Brasília: Ministério da Saúde, 2012. (Série B. Textos Básicos de Saúde).

BRASIL. Ministério do Planejamento, Orçamento e Gestão. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Censo Demográfico 2010**. Brasília: Ministério do Planejamento, Orçamento e Gestão, 2010.

BRIGELIUS-FLOHÉ, R. Tissue-specific functions of individual glutathione peroxidases. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 27, n. 9/10, p. 951-965, 1999.

BOAVENTURA, **Biodisponibilidade do selênio da dieta regional urbana de Mato Grosso**. 1991. 108f. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1991.

BOOSALIS, M. G. The role of selenium in chronic disease. **Nutrition in Clinical Practice**, v. 23, n. 2, p. 152-160, 2008.

BOR, M. V.; CEVIK, C.; USLU, I.; GUNERAL, F.; DUZGUN, E. Selenium levels and glutathione peroxidase activity in patients with acute myocardial infarction. **Acta Cardiologica**, v. 54, p. 271-276, 1999.

BORTOLI, M. C. **Avaliação dos níveis sanguíneos do hormônio tireoidiano ativo (T3) e do estado nutricional relativo ao selênio de mulheres residentes em áreas de exposição ao mercúrio**. 2009. 130f. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2009.

BROOKES, A. J. The essence of SNPs. **Gene**, v. 234, n. 2, p. 177-186, 1999.

BROWN, K. M.; ARTHUR, J. R. Selenium, selenoproteins and human health: a review. **Public Health Nutrition**, v. 4, n. 2B, p. 593-599, 2001.

CARDOSO, B. R.; ONG, T. P.; JACOB-FILHO, W.; JALUUL, O.; FREITAS, M.; COMINETTI, C.; COZZOLINO, S. M. F. Glutathione peroxidase 1 polymorphism in Brazilian Alzheimer's disease patients: relations to the enzyme activity and to selenium status. **Journal of Nutrigenetic and Nutrigenomics**, v. 5, n. 2, p. 72-80, 2012.

CAUWENBERGH, R. V.; ROBBERECHT, H.; DEELSTRA, H.; PICRAMENOS, D.; KOSTAKOPOULOS, A. Selenium concentration in serum of healthy Greek adults. **Journal of Trace Elements and Electrolytes in Health and Disease**, v. 8, n. 2, p. 99-109, 1994.

CAUWENBERGH, R. V.; ROBBERECHT, H.; VLASLAERB, V. V.; DEELSTRA, H. Comparison of the serum selenium content of healthy adults living in the Antwerp region (Belgium) with recent literature data. **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology**, v. 18, p. 99-112, 2004.

CEARÁ. Secretaria do Planejamento e Gestão. Instituto de Pesquisa e Estratégia Econômica do Ceará. **Indicadores sociais do Ceará 2011**. Fortaleza: Secretaria do Planejamento e Gestão, 2012.

CHEN, J.; CAO, Q.; QIN, C.; SHAO, P.; WU, Y.; WANG, M.; ZHANG, Z.; YIN, C. GPx-1 polymorphism (rs1050450) contributes to tumor susceptibility: evidence from meta-analysis. **Journal of Cancer Research and Clinical Oncology**, v. 137, p. 1553-1561, 2011.

CHEN, J.; YU, M.; LI, M.; ZHAO, R.; et al. Polymorphic variations in manganese superoxide dismutase (MnSOD), glutathione peroxidase-1 (GPX1), and catalase (CAT) contribute to elevated plasma triglyceride levels in Chinese patients with type 2 diabetes or diabetic cardiovascular disease. **Molecular Cell Biochemistry**, v. 363, p. 85-91, 2012.

CINTRA, R. M. G. C. **Biodisponibilidade de selênio em dieta regional de São Paulo**. 1990. 74f. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1990.

COMBS JR, G. F. Selenium in global food systems. **British Journal of Nutrition**, v. 85, p. 517-547, 2001.

COMBS JR, G. F.; WATTS, J. C.; JACKSON, M. I.; JOHNSON, L. K.; ZENG, H.; SCHEETT, A. J.; UTHUS, E. O.; SCHOMBURG, L.; HOEG, A.; HOEFIG, C. S.; DAVIS, C. D.; MILNER, J. A. Determinants of selenium status in healthy adults. **Nutritional Journal**, v. 10, 2011.

COMINETTI, C.; BORTOLI, M. C.; PURGATTO, E.; ONG, T. P.; MORENO, F. S.; GARRIDO JR, B. G.; COZZOLINO, S. M. F. Associations between glutathione peroxidase-1 Pro198Leu polymorphism, selenium status, and DNA damage levels in obese women after consumption of Brazil nuts. **Nutrition**, v. XXX, p. 1–6, 2011a.

COMINETTI, C.; BORTOLI, M. C.; ABDALLA, D. S. P.; COZZOLINO, S. M. F. Considerações sobre estresse oxidativo, selênio e nutrigenética. **Nutrire**. v. 36, n. 3, p. 131-153, 2011b.

COOKE, M. S.; EVANS, M. D.; DIZDAROGLU, M.; LUNEC, J. Oxidative DNA damage: mechanisms, mutation, and disease. **The FASEB Journal**, v. 17, n. 10, p. 1195–1214, 2003.

COOPER, D. N.; SMITH, B. A.; COOKE, H. J.; et al. An estimate of unique DNA sequence heterozygosity in the human genome. **Human Genetics**, v. 69, p. 201-205, 1985.

COSTA, E. V. Da escravidão ao trabalho livre. In: **Da monarquia à república: momentos decisivos**. São Paulo: UNESP, 1997. p. 345-384.

COUDRAY, C.; ROUSSEL, A. M.; MAINARD, F.; ARNAUD, J.; FAVIER, A. Lipid peroxidation level and antioxidant micronutrient status in a pre-aging population; correlation with chronic disease prevalence in a French epidemiological study (Nantes, France). **The Journal of the American College of Nutrition**, v. 16, p. 584-591, 1997.

COUTINHO, V. F. **Efeito da suplementação com castanha-do-brasil (*Bertholletia excelsa* H.B.K) no estado nutricional de praticantes de capoeira em relação ao selênio.** 2003. 175f. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2003.

COX, D.G.; HANKINSON, S. E.; KRAFT, P.; HUNTER, D. J. No association between GPX1 Pro198Leu and breast cancer risk. **Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention**, v. 13, p. 1821-1822, 2004.

COZZOLINO, S. M. F. Deficiências de minerais. **Estudos Avançados**, v. 60, p. 119-126, 2007.

DAVIS, C. D.; TSUJI, P. A.; MILNER, J. A. Selenoproteins and cancer prevention. **Annual Review of Nutrition**, v. 32, p. 73-95, 2012.

DONADIO, J. L. S. **Polimorfismos nos genes da enzima glutationa peroxidase e biomarcadores do estado nutricional relativo ao selênio em população adulta de São Paulo.** 2011. 75f. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2011.

DUMONT, E.; DE PAUW, L.; VANHAECKE, F.; CORNELIS, R. Speciation of selenium in *Bertholletia excelsa* (Brazil nut): a hard nut to crack. **Food Chemistry**, v. 95, p. 684-692, 2006.

FAIRWEATHER-TAIT, S. J. Bioavailability of selenium. **European Journal of Clinical Nutrition**, v. 51, p. 520-523, 1997.

FAIRWHEATER-TAIT, S. J.; BAO, Y.; BROADLEY, M. R.; COLLINGS, R.; FORD, D.; HESKETH, J. E.; HURST, R. Selenium in human health and disease. **Antioxidants & Redox Signaling**, v. 14, n. 7, p. 1337-1384, 2011.

FARIAS, A. **História do Ceará: os índios à geração Cambeba.** Fortaleza: Tropical, 1997.

FÁVARO, D. I. T.; HUI, M. L. T.; COZZOLINO, S. M. F.; MAIHARA, V. A.; ARMELIN, M. J. A.; VASCONCELLOS, M. B. A.; YUYAMA, L. K.; BOAVENTURA, G. T.; TRAMONTE, L. V. Determination of various nutrients and toxic elements in different Brazilian regional diets by neutron activation analysis. **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology**, v. 11, p. 129-136, 1997.

FOSBERG, L.; DE FAIRE, U.; MORGENSTERN, R. Oxidative stress, human genetic variation, and disease. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 389, n. 1, p.84-93, 2001.

FOSBERG, L.; DE FAIRE, U.; MARKLUND, S. L.; ANDERSSON, P. M.; STEGMAYR, B.; MORGENSTERN, R. Phenotype determination of a common Pro-Leu polymorphism in human glutathione peroxidase 1. **Blood Cells, Molecules and Diseases**, v. 26, n. 5, p. 423-426, 2000.

FOSBERG, L.; DE FAIRE, U.; MORGENSTERN, R. Low yield of polymorphisms from EST blast searching: analysis of genes related to oxidative stress and verification of the P197L polymorphism in GPX1. **Human Mutation**, v. 13, p. 294-300, 1999.

FRISANCHO, A. R. Anthropometric standards for the assessment of growth and nutritional status. **Ann Arbor**: The University of Michigan Press, p. 48-53, 1990.

FUJII, T. M. M.; MEDEIROS, R.; YAMADA, R. Nutrigenomics and nutrigenetics: important concepts for the nutrition science. **Revista da Sociedade Brasileira de Alimentação e Nutrição**, v. 35, n. 1, p. 149-166, 2010.

GAC, P.; PAWLAS, N.; POREBA, R.; POREBA, M.; PROKOPOWICZ, A.; PAWLAS, K. Blood selenium concentration in a selected population of children inhabiting industrial regions in Upper Silesia (Poland). **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 34, p. 528-536, 2012.

GOLUBKINA, N. A.; ALFTHAN, G. V. The human selenium status in 27 regions of Russia. **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology**, v. 13, n. 1-2, p. 15-20, 1999.

GONZAGA, I. B. **Avaliação nutricional relativa ao selênio em crianças com dieta enriquecida de castanha-do-brasil (*Bertholletia excelsa* H.B.K)**. 2002. 115f. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2002.

GONZAGA, I. B.; MARTENS, A.; COZZOLINO, S. M. F. Selênio. In: COZZOLINO, S. M. F. **Biodisponibilidade de nutrientes**. São Paulo: Manole; 2012. p. 721-765.

HAMANASHI, T.; FURUTA, H.; KATO, H.; DOI, A.; TAMAI, M.; SHIMOMURA, H.; SAKAGASHIRA, S.; NISHI, M.; SASAKI, H.; SANKE, T.; NA, K. Functional variants in the GPX1 gene are associated with increased intima media thickness of carotid arteries and risk of macrovascular disease. **Diabetes**, v. 53, n. 9, p. 2455-2460, 2004.

HANSEN, R. D.; KRATHC, B. N.; FREDERIKSENA, K.; TJONNELANDA, A.; OVERVADD, K.; ROSWALL, N.; LOFT, S.; DRAGSTEDC, L. O.; VOGEL, U.; RAASCHOU-NIELSEN, O. *GPX1* Pro198Leu polymorphism, erythrocyte GPX activity, interaction with alcohol consumption and smoking, and risk of colorectal cancer. **Mutation Research**, v. 664, p. 13–19, 2009.

HAO, D-Q.; XIE, G-H.; ZHANG, Y-M.; TIAN, G-J. Determination of serum selenium by hydride generation flame atomic absorption spectrometry. **Talanta**, v. 43, p. 595-600, 1996.

HESKETH, J. Nutrigenomics and selenium - gene expression patterns, physiological targets and genetics. **Annual Review of Nutrition**, v. 28, p. 157-177, 2008.

HOFFMAN, P. R.; BERRY, M. J. Selenoprotein synthesis: a unique translational mechanism used by a diverse family of proteins. **Thyroid**, v. 15, n. 8, p. 769-775, 2005.

HIRAGI, C. O.; MIRANDA-VILELA, A. L.; ROCHA, D. M. S; OLIVEIRA, S. F.; HATAGIMA, A.; KLAUTAU-GUIMARÃES, M. N. Superoxide dismutase, catalase, glutathione peroxidase and glutathione S-transferases M1 and T1 gene polymorphisms in three Brazilian population Groups. **Genetics and Molecular Biology**, v. 34, n. 1, p. 11-18, 2011.

HOLBEN, D. H.; SMITH, A. M. The diverse role of selenium within selenoproteins: a review. **Journal of the American Dietetic Association**, v. 99, n. 7, 1999.

HU, Y. J.; DIAMOND, A. M. Role of Glutathione Peroxidase 1 in Breast Cancer: Loss of Heterozygosity and Allelic Differences in the Response to Selenium. **Cancer Research**, v. 63, p. 3347–3351, 2003.

HUANG, Z.; ROSE, A. H.; HOFFMANN, P. R. The role of selenium in inflammation and immunity: from molecular mechanisms to therapeutic opportunities. **Antioxidants & Redox Signaling**, v. 16, n. 7, p. 705-743, 2012.

ICHIMURA, T.; HABUCHI, T.; TSUCHIYA, N.; WANG, L.; OYAMA, C.; SATO, K.; NISHIYAMA, H.; OGAWA, O.; KATO, T. Increased risk of bladder cancer associated with a glutathione peroxidase 1 codon 198 variant. **The Journal of Urology**, v. 172, p. 728-732, 2004.

IOM (INSTITUTE OF MEDICINE) Dietary Reference Intakes: vitamine C, vitamine E, selenium and carotenoids. Washington, D.C.: **National Academy Press**, 2000.

IOM (INSTITUTE OF MEDICINE) Dietary Reference Intakes: energy, carbohydrates, fiber, fat, fatty acids, cholesterol, protein and aminoacids. Washington, D.C.: **National Academy Press**, 2000.

JABLONSKA, E.; GROMADZINSKA, J.; RESZKA, E.; WASOWICZ, W.; SOBALA, W.; SZESZENIA-DABROWSKA, N.; BOFFETTA, P. Association between GPx1 Pro198Leu polymorphism, GPx1 activity and plasma selenium concentration in humans. **European Journal of Nutrition**, v. 49, p. 383-386, 2009.

JOHNSON, L. A.; PHILLIPS, J. A.; MAUER, C.; EDWARDS, M.; BALLDIN, V. H.; HALL, J. R.; BARBER, R.; CONGER, T. L.; HO, E. J.; O'BRYANT, S. E. The impact of GPX1 on the association of groundwater selenium and depression: Project FRONTIER study. **BMC Psychiatry**, v. 13, n. 7, 2013.

KARUNASINGHE, N.; HAN, D. Y.; ZHU, S.; YU, J.; et al. Serum selenium and single-nucleotide polymorphisms in genes for selenoproteins: relationship to markers of oxidative stress in men from Auckland, New Zealand. **Genes & Nutrition**, v. 7, p. 179-190, 2012.

KAUWELL, G. P. A. Emerging concepts in nutrigenomics: a preview of what is to come. **Nutrition in Clinical Practice**, v. 20, n. 1, p. 75-87, 2005.

KO, W. S.; GUO, C. H.; YEH, M. S.; LIN, L. Y.; HSU, G. S.; CHEN, P. C.; LUO, M. C.; LIN, C. Y. Blood micronutrient, oxidative stress, and viral load in patients with chronic hepatitis C. **World Journal of Gastroenterology**, v. 14, n. 30, p. 4697-4702, 2005.

KÖHRLE, J. The trace element selenium and the thyroid gland. **Biochimie**, v. 81, p. 527-533, 1999.

KOK, F. J.; HOFFMAN, A.; WITTERMAN, J. C.; DE BRUIJIN, A. M.; KRUYSEN, D. H.; DE BRUIN, M.; VALKENBURG, H. A. Decreased selenium levels in acute myocardial infarction. **The Journal of the American Medical Association**, v. 261, n. 8, p. 1161-1164, 1989.

KUCUKGERGIN, C.; SANLI, O.; AMASYALI, A. S.; TEFIK, T.; SECKIN, S. Genetic variants of MnSOD and GPX1 and susceptibility to bladder cancer in a Turkish population. **Medical Oncology**, v. 29, n. 3, p. 1928–34, 2012.

KUZUYA, M.; ANDO, F.; IGUCHI, A.; SHIMOKATA, I. Glutathione peroxidase 1 Pro198Leu variant contributes to the metabolic syndrome in men in a large Japanese cohort. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 87, p.1939-1944, 2008.

LEI, X. G.; CHENG, W.; McCLUNG, J. P. Metabolic regulation and function of glutathione peroxidase-1. **Annual Review of Nutrition**, v. 27, p. 41-61, 2007.

LEI, C.; NIU, X.; WEI, J.; ZHU, J.; ZHU, Y. Interaction of glutathione peroxidase-1 and selenium in endemic dilated cardiomyopathy. **Clinica Chimica Acta**, v. 399, p. 102-108, 2009.

LIVAK, K. J.; FLOOD, S. J. A.; MARMARO, J.; GIUSTI, W.; DEETZ, K. Oligonucleotides with fluorescent dyes at ends provide a quenched probe system useful for detecting PCR product and nucleic acid hybridization. **Genome Research**, v. 4, p. 357-362, 1995.

LYONS, G.; STANGOULIS, J.; GRAHAM, R. High-selenium wheat: biofortification for better health. **Nutrition Research Reviews**, v. 16, p. 45-60, 2003.

MAIA, C. S. C. **O selênio e a glândula tireóide: um estudo em pacientes portadores de disfunções tireoidianas nos estados de Ceará e São Paulo**. 2008. 117 f. Tese (Doutorado em Nutrição Humana Aplicada) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008.

MARTENS, A.; COZZOLINO, S. M. F. **Mapeamento da distribuição de selênio em território brasileiro por meio da análise de alimentos nativos: feijão (*Faseolus vulgaris L.*) e carne bovina para consumo humano e águas e solos oriundas**. São Paulo: FCF/USP: Departamento de Ciência dos Alimentos, 2002. 39 p. Relatório científico encaminhado a FAPESP. Processo nº 00/11578-3.

MEPLAN, C.; HUGHES, D. J.; PARDINI, B.; NACCARATI, A.; SOUCEK, P.; VODICKOVA, L.; HLAVATA, I.; VRANA, D.; VODICKA, P.; HESKETH, J. E. Genetic variants in selenoprotein genes increase risk of colorectal cancer. **Carcinogenesis**, v. 31, n. 6, p. 1074–1079, 2010.

MISTRY, H. D.; PIPKIN, F. B.; REDMAN, C. W. G.; POSTON, L. Selenium in reproductive health. **American Journal of Obstetrics**, v. 206, n. 1, p. 21-30, 2012.

MORADI, M.; EFYEKHARI, M. H.; TALEI, A.; FARD, A. R. A comparative study of selenium concentration and glutathione peroxidase activity in normal and breast cancer. **Public Health Nutrition**, v. 12, p. 59-63, 2008.

NACHMAN, M. W.; CROWELL, S. L.; et al. Estimate of the mutation rate per nucleotide in humans. **Genetics**, v. 156, p. 297-304, 2000.

NAKAMARU, Y.; TAGAMI, K.; UCHIDA, S. Distribution coefficient of selenium in Japanese agricultural soils. **Chemosphere**, v. 58, p. 1347-1354, 2005.

NEVÈ, J. Methods in determination of selenium states. **Journal of Trace Elements and Electrolytes in Health and Disease**, v. 5, p. 1-17, 1991.

NEVÈ, J. Human selenium supplementation as assessed by changes in blood selenium concentration and glutathione peroxidase activity. **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology**, v. 9, p. 65-73, 1995.

NISHIMURA, L. S. **Polimorfismo Pro198Leu no gene para a enzima antioxidante dependente de selênio glutationa peroxidase 1 e risco de câncer epidermoide da cavidade oral e orofaringe**. 2010. 83f. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2010.

OLDFIEL, J. E. Selenium World Atlas. Grimbergen, STDA, 1999, 83p.

OLUSI, S. O. Obesity is na independent risk factor for plasma lipid peroxidation and depletion of erythrocyte cytoprotective enzymes in humans. **International Journal of Obesity and and Related Metabolic Disorders**, v. 26, p. 1159-1164, 2002.

ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DA SAÚDE (OPAS). **Linhas de cuidado: hipertensão arterial e diabetes**. Brasília: Opas, 2010.

ORTUÑO, J.; ROS, G.; PERIAGO, M. J.; MARTINEZ, C.; LOPEZ, G.; RODRIGO, J. Importancia nutricional del selenio. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición.**, v. 47, n. 1, p. 6-13, 1997.

PAGLIA, D. E.; VALENTINE, W. N. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. **The Journal of Clinical Investigation**, v. 70, p. 158–169, 1976.

PAPP, L. V.; LU, J.; HOLMGREN, A.; KHANNA, K. K. From selenium to selenoproteins: synthesis, identity and their role in human health. **Antioxidants & Redox Signaling**, v. 9, n. 7, p. 776-796, 2007.

PAZ-Y-MINO, C.; MUNOZ, M. J.; LOPEZ-CORTES, A.; CABRERA, A.; PALACIOS, A.; CASTRO, B.; PAZ-Y-MINO, N.; SANCHEZ, M. E. Frequency of polymorphisms pro198leu in GPX-1 gene and ile58thr in MnSOD gene in the altitude Ecuadorian population with bladder cancer. **Oncology Research**, v. 18, n. 8, p. 395–400, 2010.

PENA, S. D. J.; DI PIETRO, G.; FUCHSHUBER-MORAES, M.; GENRO, J. P.; et al. The genomic ancestry of individuals from different geographical regions of Brazil is more uniform than expected. **Plos One**, v. 6, n. 2, 2011.

PHAROAH, P. D.; DUNNING, A. M.; PONDER, B. A.; EASTON, D. F. Association studies for finding cancer-susceptibility genetic variants. **Natural Reviews Cancer**, v. 4, n. 11, p. 850-60, 2004.

PIMENTEL, J. A. C. **Selênio em carne bovina *in natura*: avaliação de acordo com a procedência e tipos de corte**. 2012. 83f. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2012.

PIRES, L. V. **Efeito da suplementação com castanha-do-brasil (*Bertholletia excelsa H.B.K*) na expressão gênica de citocinas inflamatórias e sua relação com o estresse oxidativo em pacientes com diabetes *mellitus* tipo 1**. 2012. 130f. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2012.

PRADA, F. J. A.; VOLTARELLI, F. A.; OLIVEIRA, C. A. M.; GOBATTO, C. A.; MACEDO, D. V.; MELLO, M. A. R. Condicionamento aeróbio e estresse oxidativo em ratos treinados por natação em intensidade equivalente ao limiar anaeróbio. **Revista Brasileira de Ciência e Movimento**, v. 12, n. 2, p. 29-34, 2004.

RAMENSKY, V.; BORK, P.; SUNYAEV, S. Human non-synonymous SNPs: server and survey. **Nucleic Acids Research**, v. 30, n. 17, p. 3894-3900, 2002.

RATNASINGHE, D.; TANGREA, J. A.; ANDERSEN, M. R.; BARRETT, M. J.; VIRTAMO, J.; TAYLOR, P. R.; ALBANES, D. Glutathione Peroxidase Codon 198 Polymorphism Variant Increases Lung Cancer Risk. **Cancer Research**, v. 60, p. 6381-6383, 2000.

RAVN-HAREN, G.; OLSEN, A.; TJONNELAND, A.; DRAGSTED, L. O.; NEXO, B. A.; WALLIN, H.; OVERVAD, K.; RASCHOU-NIELSEN, O.; VOGEL, U. Associations between GPX1 Pro198Leu polymorphism, erythrocyte GPX activity, alcohol consumption and breast cancer risk in a prospective cohort study. **Carcinogenesis**, v. 27, n. 4, p. 820-825, 2006.

REILLY, C. **Selenium in food and health**. New York: Springer; 2006.

RICHIE JR, J. P.; MUSCAT, J. E.; ELLISON, I.; CALCAGNOTTO, A.; KLEINMAN, W.; EL-BAYOUMY, K. Association of selenium status and blood glutathione concentrations in blacks and whites. **Nutrition and Cancer**, v.63, n. 3, p. 367–375, 2011.

ROCHA, A. V. **Estado nutricional relativo ao selênio de crianças residentes em duas localidades de Rondônia, Amazônia Ocidental**. 2009. 109f. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2009.

RODRIGUEZ, S.; GAUNT, T. R.; DAY, N. M. Hardy-Weinberg Equilibrium Testing of Biological Ascertainment for Mendelian Randomization Studies. **American Journal of Epidemiology**, v. 169, n. 4, p. 505-14, 2009.

ROMERO, D. C.; BLANCO, L. F.; SÁNCHEZ, P. H.; RODRÍGUEZ, E.; MAJEM, L. S. Serum selenium concentration in a representative sample of the Canarian population. **Science of the Total Environment**, v. 269, p. 65-73, 2001.

SABÉ, A. R.; RUBIO, A.; GARCÍA-BELTRÁN, L. Determination of selenium in human blood specimens by electrothermal atomic absorption. **Analytica Chimica Acta**, v. 419, p. 121-35, 2000.

SAFARALIZADEH, R.; KARDAR, G. A.; POURPAK, Z.; MOIN, M.; ZARE, A.; TEIMOURIAN, S. Serum concentration of selenium in healthy individuals living in Tehran. **Nutrition Journal**, v. 4, n. 32, 2005.

SCHOMBURG, L.; KOHRLE, J. On the importance of selenium and iodine metabolism for thyroid hormone biosynthesis and human health. **Molecular Nutrition & Food Research**, v. 52, n. 11, p. 1235-1246, 2008.

SCHORK, N. J.; FALLIN, D.; LANCHBURY, S. Single nucleotide polymorphisms and the future of genetic epidemiology. **Clinical Genetics**, v. 58, n. 4, p. 250-264, 2000.

SEIXAS, T. G.; KEHRIG, H. A. O selênio no meio ambiente. **Oecologia Brasiliensis**, v. 11, n. 2, p. 264-276, 2007.

SHEENAN, T. M. T; HALL, D. J. Measurement of selenium in clinical specimens. **Annals of Clinical Biochemistry**, v. 36, p. 301-315, 1999.

SNOOK, J. T.; PALMQUIST, D. L.; MOXON, A. L.; CANTOR, A. H.; VIVIAN, V. M. Selenium status of a rural (predominantly Amish) community living in a low selenium area. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 38, n. 4, p. 620-30, 1983.

STRATIGOPOULOS, G.; PADILHA, S. L.; LEDUC, C. A.; WATSON, E.; HATTERSLEY, A. T.; MCCARTHY, M. I.; ZELTSER, L. M.; CHUNG, W. K.; LEIBEL, R. L. Regulation of Fto/Fm gene expression in mice and humans. **American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v. 294, p. 1185-1196, 2008.

SUZEN, H. S.; GUCYENER, E.; SAKALLI, O.; UCKUN, Z.; KOSE, G.; USTEL, D.; DUYDU, Y. CAT C-262T and GPX1 Pro198Leu polymorphisms in a Turkish population. **Molecular Biology Reports**, v. 37, p. 87–92, 2010.

SUZUKI, K. T. Metabolomics of selenium: Se metabolites based on speciation studies. **Journal of Health Science**, v. 51, n. 2, p. 107-114, 2005.

SYVÄNEN, A. Accessing genetic variation: genotyping single nucleotide polymorphisms. **Nature Reviews Genetics**, v. 2, n. 12, p. 930-942, 2001.

TISHKOFF, S. A; VERRELLI, B. C. Patterns of human genetic diversity: implications for human evolutionary history and disease. **Annual Review of Genomics and Human Genetics**, v. 4, p. 293-340, 2003

VENTER, J. C.; ADAMS, M. D.; MYERS, E. W.; et al. The sequence of the human genome. **Science**, v. 291, n. 5507, p. 1304-1351, 2001.

VIVANCO, R. H. C.; MENGE, F. G. W.; BARRIGA, P. A. C. Variaciones de la fragilidad osmótica eritrocitaria en bovinos a pastoreo sobre praderas con bajo contenido de selenio y suplementados o no con selênio. **Revista Científica**, v. XVI, n. 3, p. 227-231, 2006.

WANG, Z.; MOULT, J. SNPs, protein structure and disease. **Human Mutation**, v. 17, n. 4, p. 263-270, 2001.

WILLET, W. C. Issues in analysis and presentation of dietary data. In: _____. *Nutritional Epidemiology*. 2 ed. New York: Oxford University Press, 1998. P.321-345.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Diet, nutrition and the prevention of chronic diseases**. Report of a Joint WHO/FAO Expert Consultation. Geneva: World Health Organization, 2003. (WHO Technical Report Series, 916).

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Obesity: preventing and managing the global epidemic**. Geneva, 2004. 253 p.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Waist circumference and waist-hip ratio: report of a WHO expert consultation**. Geneva, 2008. 39p.

YAN, J.; WANG, F.; QIN, H.; CHEN, G.; EVIATAR, N.; FAHIMA, T.; CHENG, J. Natural variation in grain selenium concentration of wild barley, *Hordeum pontaneum*, populations from Israel. **Biological Trace Elements Research**, 2010.

YANG, P.; BAMLET, W. R.; EBBERT, J. O.; TAYLOR, W. R.; DE ANDRADE, M. Glutathione pathway genes and lung cancer risk in young and old populations. **Carcinogenesis**, v. 25, n. 10, p. 1935–1944, 2004.

XIA, Y.; HILL, K. E.; BYRNE, D. W.; XU, J.; BURK, R. F. Effectiveness of selenium supplements in a low selenium area of China. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 81, p. 829-834, 2005.

ZACHARA, B. A.; UKLEJA-ADAMOWICZ, M.; NARTOWICZ, E.; LECKA, J. Increased plasma glutathione peroxidase activity in patients with acute myocardial infarction. **Medical Science Monitor**, v.7, p. 415-420, 2001.

APÊNDICES

APÊNDICE 1 – Modelo de Termo de Consentimento

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

1. Informações do Sujeito da Pesquisa			
Nome:			
Documento de Identidade nº:		Sexo: () M () F	
Data de Nascimento: / /			
Endereço:		Nº	Complemento:
Bairro:	Cidade:		Estado:
CEP:	Telefones:		
2. Título do Projeto de Pesquisa: “Polimorfismo Pro198Leu no gene da glutatona peroxidase 1 e sua relação com o estado nutricional relativo ao selênio em indivíduos saudáveis residentes no município de Fortaleza, Ceará”			
3. Duração da Pesquisa: 24 meses			
4. Nome do pesquisador responsável: Sílvia Maria Franciscato Cozzolino			
Cargo/ Função: Professor titular		Nº Registro Conselho Regional: CRN 0621	
Instituição: Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo (FCF-USP)			

Convidamos o(a) Sr.(a) a participar de uma pesquisa, cujo título é **“Polimorfismo Pro198Leu no gene da glutatona peroxidase 1 e sua relação com o estado nutricional relativo ao selênio em indivíduos saudáveis residentes no município de Fortaleza, Ceará”**. Este estudo será conduzido pela prof^a e pesquisadora responsável Sílvia Maria Franciscato Cozzolino da FCF/USP. Sua participação terá duração estimada de um mês, tempo necessário para realização de uma única coleta de sangue e para responder a questionário sobre sua alimentação (Recordatório de 24 Horas) por três vezes, em dias da semana que não se repitam. Esta pesquisa é considerada de risco mínimo.

A glutatona peroxidase (GPx) é uma enzima que desempenha um papel muito importante no combate aos radicais livres no organismo, os quais têm sido apontados como fatores de risco para surgimento de doenças como câncer, doenças cardíacas, envelhecimento precoce, entre outras. A atividade dessa enzima está fortemente relacionada com a concentração do mineral selênio no sangue, pois esse mineral faz parte da estrutura dessa enzima. O selênio é encontrado em alimentos como castanhas, nozes, carnes bovinas e carnes de aves. O consumo inadequado de selênio na alimentação pode levar a uma diminuição da capacidade de combater os radicais livres, deixando assim o organismo mais exposto ao ataque desses radicais livres. Diferenças genéticas entre os indivíduos (polimorfismos) também estão relacionadas com o modo de utilização do selênio pelo organismo. Dessa maneira justifica-se a importância da verificação da característica genética da enzima GPx1 e sua relação com o nível de selênio no sangue de indivíduos saudáveis residentes em Fortaleza, Ceará. Através dessa pesquisa será possível, através da determinação da quantidade desse mineral no sangue, verificar se a alimentação dos participantes está adequada. Ao final da pesquisa, os resultados serão entregues ao sr.(a).

O (a) Sr.(a) será submetido a exames clínicos e laboratoriais, com coleta de sangue. No dia da coleta de sangue, o (a) sr.(a) será orientado(a) pela pesquisadora

responsável e deverá vir em jejum de 8 horas. Serão coletados 20 mL do seu sangue e nesse sangue nós iremos avaliar a quantidade de selênio e a atividade da enzima dependente de selênio, chamada glutationa peroxidase. Todos estes testes bioquímicos serão realizados após cada coleta de sangue. Nós iremos também avaliar as alterações na sequência do DNA (que é a característica de cada pessoa). As amostras de sangue não serão armazenadas para a realização de pesquisas futuras.

No mesmo dia da coleta de sangue, o (a) sr.(a) irá responder uma entrevista sobre sua alimentação e sobre outros dados socioeconômicos. Também serão feitas medidas de peso, altura e circunferência da cintura.

O material utilizado para a coleta de sangue será descartável e a coleta será feita por um técnico especializado e certificado. Durante a coleta de sangue, o (a) sr.(a) poderá sentir tonturas por estar em jejum e leve dor devido à picada da agulha. Poderá também surgir uma mancha um pouco arroxeadada no local da picada. O (a) sr.(a) receberá um lanche, após a coleta.

Em qualquer etapa do estudo, o (a) sr.(a) poderá falar com os responsáveis pela pesquisa para ter informações sobre a mesma. Eventuais gastos decorrentes da pesquisa serão ressarcidos.

Os resultados desta pesquisa serão divulgados apenas em revistas e congressos científicos e o seu nome será mantido em segredo. O (a) Sr.(a) poderá desistir do estudo a qualquer momento, sem nenhum constrangimento.

Em caso de dúvidas, entrar em contato com:

Larissa Bezerra Santos

Email: larissabezsa@usp.br

(85) 9608.6198 / (85) 3101.9830

Av. Paranjana, 1700, Campus do Itaperi – Fortaleza/CE

ou

(11) 8655.8321 / (11) 3091-3625

Av. Prof. Lineu Prestes, 580 – Bloco 14 05508-900 - São Paulo/SP

Declaro que, após convenientemente esclarecido pelo pesquisador e ter entendido o que me foi explicado, consinto em participar do presente Protocolo de Pesquisa.

Fortaleza, _____ de _____ de _____.

Assinatura do sujeito de pesquisa

Assinatura do pesquisador responsável

Profª Tit. Sílvia Maria Franciscato Cozzolino

Para qualquer questão, dúvida, esclarecimento ou reclamação sobre aspectos éticos dessa pesquisa, favor entrar em contato com: Comitê de Ética em Pesquisas da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo – Av Prof Lineu Prestes, 580 - Bloco 13A – Butantã – São Paulo – CEP 05508-900, Telefone 3091-3677 – e-mail: cepfcf@usp.br

APÊNDICE 2 – Modelo de Formulário

FORMULÁRIO DE DADOS SOCIECONÔMICOS E NUTRICIONAIS

Critérios de inclusão:

Idade 20-50 anos (sem menopausa), não fazer uso de antiinflamatórios (corticoides, glicocorticoides, corticosteroides) e de suplementos vitamínicos ou minerais; não apresentar DCNT ou doenças inflamatórias agudas (artrite reumatoide, LES); ausência de etilismo ou tabagismo; não ter descendência oriental; não ser atleta de elite.

Data: ____/____/____

Nome: _____

Endereço: _____

Telefones: () _____

E-mail: _____

v.1. Iniciais: _____	v.1
v.2. Idade: _____ Data de nascimento: ____/____/____	v.2
v.3. Naturalidade: 1.() Fortaleza 2.() Interior CE 3. Outro: _____	v.3
v.4. Tempo de residência em Fortaleza: 1.() ≥ 5 anos 2.() < 5 anos Se < 5 anos, quantos anos: _____	v.4
v.5. Estado Civil: 1.() Solteiro(a) 2.() Casado(a)/união estável 3.() Separado(a)/desquitado(a)/divorciado(a) 4.() Viúvo(a)	v.5
v.6. Você considera-se (etnia): 1.() Branco(a) 2.() Negro(a) 3.() Pardo(a)/mulato(a) 4.() Amarelo (de origem oriental) 5.() Indígena ou de origem indígena	v.6
v.7. Grau de instrução: 1.() Nenhuma escolaridade 2.() Ens. Fund. incompl. 3.() Ens. Fund. compl. 4.() Ens. Médio incompl. 5.() Ens. Médio compl. 6.() Ens. Superior incompl. 7.() Ens. Superior compl. 8.() Pós graduação	v.7

v.8. Renda Familiar (salário mínimo R\$ 622,00): 1.(<input type="checkbox"/>) Menos de 1 SM 2.(<input type="checkbox"/>) 1 SM 3.(<input type="checkbox"/>) De 1 a 2 SM 4.(<input type="checkbox"/>) De 2 a 5 SM 5.(<input type="checkbox"/>) De 5 a 10 SM 6.(<input type="checkbox"/>) Acima de 10 SM	v.8
v.9. Profissão: _____	v.9
v.10. Filhos: 1.(<input type="checkbox"/>) Sim 2.(<input type="checkbox"/>) Não	v.10
v.11. Tabagismo: 1.(<input type="checkbox"/>) Nunca fumou 2.(<input type="checkbox"/>) Ex-fumante	v.11
v.12. Ingestão de bebida alcoólica: 1.(<input type="checkbox"/>) Sim 2.(<input type="checkbox"/>) Não Se sim, qual a frequência: (<input type="checkbox"/>) Até 1 a 2x/mês (<input type="checkbox"/>) 1x/semana (<input type="checkbox"/>) 2 a 3x/semana ou mais	v.12
v.13. Histórico de doenças na família: 1.(<input type="checkbox"/>) Obesidade 2.(<input type="checkbox"/>) Diabetes 3.(<input type="checkbox"/>) HAS 4.(<input type="checkbox"/>) DCV 5.(<input type="checkbox"/>) Câncer 6.(<input type="checkbox"/>) Outro: _____	v.13
v.14. Alguma doença diagnosticada: 1.(<input type="checkbox"/>) Sim 2.(<input type="checkbox"/>) Não Se sim, qual/quais: _____	v.14
v.15. Medicamentos em uso: 1.(<input type="checkbox"/>) Sim 2.(<input type="checkbox"/>) Não Se sim, qual/quais: _____	v.15
v.16. Suplemento vitamínico/mineral em uso: 1.(<input type="checkbox"/>) Sim 2.(<input type="checkbox"/>) Não Se sim, qual/quais: _____	v.16
v.17. Prática de atividade física: 1.(<input type="checkbox"/>) Sim 2.(<input type="checkbox"/>) Não Se sim, qual/frequência: _____	v.17

FORMULÁRIO DE DADOS ANTROPOMÉTRICOS

v.18. Peso (kg): _____	v.18
v.19. Altura (m): _____	v.19
v.20. IMC (kg/m ²): _____	v.20
v.21. Classificação nutricional: 1. (<input type="checkbox"/>) Desnutrição (IMC<18,5) 2. (<input type="checkbox"/>) Eutrofia (18,5<IMC<24,9) 3. (<input type="checkbox"/>) Sobrepeso (25<IMC<29,9) 4. (<input type="checkbox"/>) Obesidade grau I (30<IMC<34,9) 5. (<input type="checkbox"/>) Obesidade grau II (35<IMC<39,9) 6. (<input type="checkbox"/>) Obesidade grau III (IMC>40)	v.21
v.22. Circunferência da cintura (cm): _____	v.22

APÊNDICE 3 – Modelo para Aplicação de Recordatório de 24 horas

RECORDATÓRIO 24h _____

Nome: _____ Número: _____

Data: ____/____/____ dia da semana: _____

Horário	Alimentos/Preparação	Medida Caseira	Gramas

ANEXOS

ANEXO 1 – Aprovação do Comitê de Ética



UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
Comitê de Ética em Pesquisa - CEP

PARECER CONSUBSTANCIADO

Parecer CEP/FCF/192/2011
Protocolo CEP/FCF/596
CAAE: 0046.0.018.000-11

I – Identificação:

Projeto de Pesquisa:	Polimorfismo Pro198Leu no gene da glutatona peroxidase 1 e sua relação com o estado nutricional relativo ao selênio em indivíduos saudáveis residentes no município de Fortaleza, Ceará
Pesquisador Responsável:	Profa. Dra. Silvia Maria Franciscato Cozzolino
Pós-graduanda envolvida:	Larissa Bezerra Santos
Instituição:	Faculdade de Ciências Farmacêuticas da USP
Área Temática Especial:	Genética Humana

II - Sumário Geral do Protocolo:

O selênio (Se) apresenta atividade como parte de proteínas chamadas selenoproteínas. A concentração de selênio nos alimentos depende do local onde foram cultivados, pois reflete diretamente sobre o teor do mineral no solo. A glutatona peroxidase (GPx), enzima que possui selênio em seu sítio ativo, constitui o principal sistema enzimático antioxidante e apresenta sete isoformas conhecidas, sendo a GPx1 (citoplasmática) a mais abundante. A atividade da GPx encontra-se fortemente correlacionada com a concentração sanguínea de selênio, o que permite empregá-la como um indicador de balanço metabólico desse mineral. O consumo inadequado de selênio provoca uma diminuição da atividade da GPx, o que pode desencadear o surgimento de estresse oxidativo. Além disso, estudos vêm mostrando que o polimorfismo Pro198Leu no gene da GPx1 também pode diminuir a atividade dessa enzima. Considerando esses fatos, o presente estudo se propõe a verificar a relação entre esse polimorfismo e o estado nutricional relativo ao selênio em indivíduos saudáveis residentes no município de Fortaleza/Ceará, onde foi mostrado que, pela existência de um solo rico em selênio, o consumo diário deste mineral é adequado.

Objetivo geral do projeto:

- Avaliar o estado nutricional relativo ao selênio em indivíduos saudáveis residentes no estado do Ceará;
- Determinar a frequência do polimorfismo Pro198Leu no gene da glutatona peroxidase 1.
- Verificar a associação entre o estado nutricional relativo ao selênio e o polimorfismo Pro198Leu no gene da glutatona peroxidase 1 na população estudada.

Objetivos específicos:

- Determinar a atividade enzimática da GPx;
- Caracterizar antropometricamente a população em estudo;
- Determinar a concentração de selênio no plasma e nos eritrócitos;



UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
Comitê de Ética em Pesquisa - CEP

- Avaliar o consumo alimentar em relação ao selênio e macronutrientes na população estudada.

Tipo de estudo: transversal

Descrição da Casuística:

O estudo será realizado com 100 indivíduos de ambos os sexos, com idade entre 20 e 50 anos, voluntários, que residam no município de Fortaleza, Ceará.

Os critérios de inclusão serão o não uso de suplementos vitamínicos ou minerais e de antiinflamatórios; a ausência de etilismo crônico e de tabagismo; a ausência de doenças crônicas não transmissíveis que interfiram no estado nutricional relativo ao selênio; a ausência de menopausa em mulheres; a ausência de descendência oriental e a ausência de prática de esportes como atletas de elite.

III – Situação do Protocolo: APROVADO em reunião de 28 de novembro de 2011.

Cabe ao pesquisador responsável:

- Comunicar ao CEP:
 - A ocorrência de efeitos colaterais e ou de reações não esperadas;
 - Eventuais modificações no projeto aguardando a apreciação e aprovação do CEP;
 - A interrupção do projeto;
- Rubricar todas as folhas do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – TCLE, apondo sua assinatura na última página do referido termo. Da mesma forma, o sujeito de pesquisa ou seu representante legal.
- Apresentar relatório parcial em Julho/2012 e relatório final em Julho/2013.(modelo do CEP)

São Paulo, 28 de novembro de 2011.

Prof. Dra. Mariza Landgraf
Coordenadora do Comitê de Ética em Pesquisa
CEP/FCF/USP

ANEXO 2 – Ficha do aluno

Janus - Sistema Administrativo da Pós-Graduação



Universidade de São Paulo
Faculdade de Ciências Farmacêuticas
Documento sem validade oficial
FICHA DO ALUNO

9132 - 7494391/2 - Larissa Bezerra Santos

Email: larissabezsa@usp.br
Data de Nascimento: 17/10/1984
Cédula de Identidade: RG - 99010537324 - CE
Local de Nascimento: Estado do Ceará
Nacionalidade: Brasileira
Graduação: Nutricionista - Universidade Estadual do Ceará - Ceará - Brasil - 2010

Curso: Mestrado
Programa: Ciência dos Alimentos
Área: Nutrição Experimental
Data de Matrícula: 03/06/2011
Início da Contagem de Prazo: 03/06/2011
Data Limite para o Depósito: 03/12/2013
Orientador: Prof(a), Dr(a), Silvia Maria Franciscato Cozzolino - 03/06/2011 até o presente. E.Mail: smfcozzo@usp.br
Proficiência em Línguas: Inglês, Aprovado em 03/06/2011
Data de Aprovação no Exame de Qualificação: Aprovado em 24/08/2012.
Data do Depósito do Trabalho:
Título do Trabalho:
Data Máxima para Aprovação da Banca:
Data de Aprovação da Banca:
Data Máxima para Defesa:
Data da Defesa:
Resultado da Defesa:
Histórico de Ocorrências: Ingressou no Mestrado em 03/06/2011
Matrícula de Acompanhamento em 22/07/2013

Aluno matriculado nas normas vigentes a partir de 01/07/2009

Última ocorrência: Matrícula de Acompanhamento em 22/07/2013

Impresso em: 04/11/13 23:21:38

Janus - Sistema Administrativo de Pós-Graduação



Universidade de São Paulo
Faculdade de Ciências Farmacêuticas
Documento sem validade oficial
FICHA DO ALUNO

9132 - 7494391/2 - Larissa Bezerra Santos

Sigla	Nome da Disciplina	Início	Término	Carga Horária	Cred.	Freq.	Conc.	Exc.	Situação
HNT5724-4/7	Delimitação de Estudos Populacionais em Alimentação e Nutrição (Faculdade de Saúde Pública - Universidade de São Paulo)	01/08/2011	05/09/2011	60	0	0	-	N	Matrícula cancelada
HNT5732-8/2	Métodos para Avaliação do Consumo Alimentar de Populações (Faculdade de Saúde Pública - Universidade de São Paulo)	16/08/2011	27/09/2011	60	4	83	A	N	Concluída
FBA5728-3/3	Aprimoramento Dietético	12/09/2011	09/10/2011	60	4	100	A	N	Concluída
HNT5759-1/2	Nutrigênica no Contexto das Doenças Crônicas não Transmissíveis (Faculdade de Saúde Pública - Universidade de São Paulo)	04/10/2011	08/11/2011	60	4	93	A	N	Concluída
ICB5711-2/1	Redação de Trabalhos Científicos (Instituto de Ciências Biomédicas - Universidade de São Paulo)	31/10/2011	08/12/2011	45	3	80	A	N	Concluída
HNT5737-3/3	Ciência de Alimentos (Faculdade de Saúde Pública - Universidade de São Paulo)	29/02/2012	11/04/2012	60	0	0	-	N	Matrícula cancelada
HEP5800-3/1	Bioestatística (Faculdade de Saúde Pública - Universidade de São Paulo)	01/03/2012	10/05/2012	90	0	0	-	N	Pre-matrícula indeferida
FBA5899-2/2	BioDisponibilidade de Nutrientes e de Substâncias Bioativas em Alimentos e Dietas	05/03/2012	15/04/2012	90	6	100	A	N	Concluída
HNT5767-1/1	Transtornos Alimentares: Intersecções com Obesidade no Atendimento Nutricional (Faculdade de Saúde Pública - Universidade de São Paulo)	14/05/2012	18/06/2012	60	4	80	A	N	Concluída

	Créditos mínimos exigidos		Créditos obtidos
	Para exame de qualificação	Para depósito da dissertação	
Disciplinas:	0	25	25
Estágios:			
Total:	0	25	25

Créditos Atribuídos à Dissertação: 71

Conceito a partir de 02/01/1997:

A - Excelente, com direito a crédito; B - Bom, com direito a crédito; C - Regular, com direito a crédito; R - Reprovado; T - Transferência.
Um(1) crédito equivale a 15 horas de atividade programada.

Última ocorrência: Matrícula de Acompanhamento em 22/07/2013

Impresso em: 04/11/13 23:21:38

ANEXO 3 – Currículo *lattes*

Larissa Bezerra Santos

Curriculum Lattes

Dados pessoais

Nome Larissa Bezerra Santos
Nome em citações bibliográficas SANTOS, L. B.
Sexo Feminino
Cor ou Raça Parda
Filiação José Santos Filho e Antonia Haydee Bezerra
Nascimento 17/10/1984 - Fortaleza/CE - Brasil
Carteira de Identidade 99010537324 SSPDC - CE - 12/01/2003
CPF 006.790.713-00

Endereço residencial Rua Lisboa, 1100, apto 121
Cerqueira César - Sao Paulo
05413-001, SP - Brasil
Telefone: 11 85668321

Endereço profissional Universidade de São Paulo, Faculdade de Ciências Farmacêuticas
Avenida Professor Lineu Prestes, 580, Bloco 14
Butantã - Sao Paulo
05508-900, SP - Brasil
Telefone: 11 30913625

URL da home page: <http://www.usp.br>

Endereço eletrônico

E-mail para contato : larissabezsa@usp.br
e-mail alternativo : larissabezsa@gmail.com

Formação acadêmica/titulação

- 2011** Mestrado em Ciências dos Alimentos.
Universidade de São Paulo, USP, Sao Paulo, Brasil
Título: Polimorfismo Pro198Leu no gene da glutationa peroxidase 1 e sua relação com o estado nutricional relativo ao selênio em uma população adulta residente em Fortaleza, Ceará., Ano de obtenção: 2013
Orientador: Sílvia Maria Franciscato Cozzolino
Bolsista do(a): Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico
Palavras-chave: selênio, polimorfismo Pro198Leu na GPx1
- 2005 - 2010** Graduação em Nutrição.
Universidade Estadual do Ceará, UECE, Fortaleza, Brasil
Título: Selênio e estresse oxidativo e indivíduos saudáveis
Orientador: Carla Soraya Costa Maia
-

Formação complementar

- 2006** Extensão universitária em Curso de Língua Estrangeira.
Universidade Federal do Ceará, UFC, Fortaleza, Brasil
- 2007** Extensão universitária em Curso de Língua Estrangeira.
Universidade Federal do Ceará, UFC, Fortaleza, Brasil

2006 - 2006	Curso de curta duração em Boas Práticas de Manipulação de Alimentos. Serviço Nacional de Aprendizagem Comercial - CE, SENAC/CE, Fortaleza, Brasil
2006 - 2006	Curso de curta duração em Elaboração do Manual de Boas Práticas. Serviço Nacional de Aprendizagem Comercial - CE, SENAC/CE, Fortaleza, Brasil
2006 - 2006	Extensão universitária em Programa de Monitoria Acadêmica. Universidade Estadual do Ceará, UECE, Fortaleza, Brasil Bolsista do(a): Fundação Universidade Estadual do Ceará
2005 - 2005	Extensão universitária em Curso de Operação de Microcomputadores. Universidade Estadual do Ceará, UECE, Fortaleza, Brasil

Atuação profissional

1. Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq

Vínculo institucional

2009 - 2010 Vínculo: Bolsista Iniciação Científica , Enquadramento funcional: Bolsista , Carga horária: 20, Regime: Dedicção exclusiva

2. Hospital Antônio Prudente - HAP

Vínculo institucional

2009 - 2010 Vínculo: Estágio , Enquadramento funcional: Estagiário , Carga horária: 20, Regime: Parcial

3. Secretaria Municipal de Educação - SME

Vínculo institucional

2008 - 2010 Vínculo: Estágio , Enquadramento funcional: Estagiário , Carga horária: 20, Regime: Parcial

4. Grupo Pão de Açúcar - GPA

Vínculo institucional

2008 - 2008 Vínculo: Estágio , Enquadramento funcional: Estagiário de Nutrição , Carga horária: 20, Regime: Parcial

5. Universidade de São Paulo - USP

Vínculo institucional

2011 - 2013 Vínculo: Outro (especifique) , Enquadramento funcional: Bolsista de Mestrado , Carga horária: 40, Regime: Dedicção exclusiva

Áreas de atuação

1. Análise Nutricional de População
2. Dietética
3. Bioquímica da Nutrição

Projetos

Projetos de pesquisa **2011 - 2013** Polimorfismo Pro198Leu no gene da glutathiona peroxidase 1 e sua relação com o estado nutricional relativo ao selênio em uma população adulta residente em Fortaleza, Ceará.

Descrição: O projeto de Mestrado tem como objetivos avaliar o estado nutricional relativo ao selênio em uma população adulta residente no município de Fortaleza/CE e determinar a frequência do polimorfismo Pro198Leu no gene da glutathiona peroxidase, a fim de verificar a associação entre o estado nutricional relativo ao selênio e o polimorfismo Pro198Leu no gene da glutathiona peroxidase 1 na população estudada.

Situação: Em andamento Natureza: Projetos de pesquisa

Integrantes: Larissa Bezerra Santos; Silvia Maria Franciscato Cozzolino (Responsável)

2009 - 2010 INFLUÊNCIA DO SELÊNIO NA ATIVIDADE DAS DESIODASES DE PACIENTES ADULTOS COM DISTÚRBIOS TIREOIDEANOS

Descrição: A pesquisa tinha o objetivo de avaliar o estado nutricional referente ao Selênio e correlacionar estas análises com o Hipertireoidismo e o Hipotireoidismo, já que pesquisas apontam a importância do Se com as desiodases que geram o aumento ou redução da secreção dos hormônios tireoidianos.

Situação: Concluído Natureza: Projetos de pesquisa

Alunos envolvidos: Graduação (2);

Integrantes: Larissa Bezerra Santos (Responsável); ;

Financiador(es): Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico-CNPq

Idiomas

Inglês Compreende Bem , Fala Bem , Escreve Bem , Lê Bem

Espanhol Compreende Bem , Fala Bem , Escreve Bem , Lê Bem

Produção bibliográfica

Trabalhos publicados em anais de eventos (resumo)

1. PESSOA, P. P., VIEIRA, E. D. K. F., **SANTOS, L. B.**, BARROSO, C. F., MAIA, C. S. C. Análise da atividade da enzima glutathiona peroxidase (GSH-PX) como biomarcador de selênio em indivíduos saudáveis In: XV Semana Universitária da Universidade Estadual do Ceará, 2010, Fortaleza.

Análise da atividade da enzima glutathiona peroxidase (GSH-PX) como biomarcador de selênio em indivíduos saudáveis. , 2010.

Referências adicionais : Brasil/Português.

2. VIEIRA, E. D. K. F., PESSOA, P. P., **SANTOS, L. B.**, BARROSO, C. F., MAIA, C. S. C. Análise da iodúria de funcionários de uma universidade pública de Fortaleza - CE In: XV SEMana Universitária da Universidade Estadual do Ceará, 2010, Fortaleza.

Análise da iodúria de funcionários de uma universidade pública de Fortaleza - CE. , 2010.

Palavras-chave: IODÚRIA

Áreas do conhecimento : Bioquímica da Nutrição

Referências adicionais : Brasil/Português. Meio de divulgação: Outro

3. MAIA, C. S. C., PEREIRA, M. V., **SANTOS, L. B.**, BARROSO, C. F., COZZOLINO, S. M. F., FE, M. A. B. M., FEIJAO, I. E. P.

Estado Nutricional Relativo ao Selênio de funcionários saudáveis de uma universidade pública de Fortaleza, CE In: XXI Congresso Brasileiro de Nutrição e I Congresso Ibero-americano de Nutrição, 2010, Joinville.

Estado Nutricional Relativo ao Selênio de funcionários saudáveis de uma universidade pública de Fortaleza, CE. , 2010.

Referências adicionais : Brasil/Português. Meio de divulgação: Impresso

4. BARROSO, C. F., VIEIRA, E. D. K. F., **SANTOS, L. B.**, PESSOA, P. P., MONTENEGRO JUNIOR, R. M., COZZOLINO, S. M. F., MAIA, C. S. C.

Minerais com função antioxidante e distúrbios da tireóide: avaliação do consumo alimentar em pacientes atendidos em um hospital público de Fortaleza/CE In: XV Semana Universitária da Universidade Estadual do Ceará, 2010, Fortaleza.

Minerais com função antioxidante e distúrbios da tireóide: avaliação do consumo alimentar em pacientes atendidos em um hospital público de Fortaleza/CE. , 2010.

Referências adicionais : Brasil/Português. Meio de divulgação: Outro

5. **SANTOS, L. B.**, BARROSO, C. F., VIEIRA, E. D. K. F., PESSOA, P. P., MAIA, C. S. C.

Selênio e estresse oxidativo em indivíduos saudáveis In: XV Semana Universitária da Universidade Estadual do Ceará, 2010, Fortaleza.

Selênio e estresse oxidativo em indivíduos saudáveis. , 2010.

Palavras-chave: selênio, estresse oxidativo

Referências adicionais : Brasil/Português. Meio de divulgação: Outro

6. **SANTOS, L. B.**, BARROSO, C. F., PEREIRA, M. V., VASCONCELOS, N. L., COZZOLINO, S. M. F., MONTENEGRO JUNIOR, R. M., MAIA, C. S. C.

CONSUMO ALIMENTAR REFERENTE AO ZINCO DE PACIENTES COM HIPOTIREOIDISMO E HIPERTIREOIDISMO PRIMÁRIOS ATENDIDOS EM UM HOSPITAL PÚBLICO DE FORTALEZA, CE. In: XII Semana Universitária da Universidade Estadual do Ceará, 2008, Fortaleza.

XII Semana Universitária da Universidade Estadual do Ceará. , 2008.

Referências adicionais : Brasil/Português. Meio de divulgação: Impresso

7. BARROSO, C. F., FEIJAO, I. E. P., QUEIROZ, J. A., **SANTOS, L. B.**, MONTENEGRO JUNIOR, R. M., COZZOLINO, S. M. F., MAIA, C. S. C.

Consumo Alimentar referente ao Zinco de pacientes com Hipotireoidismo primário e secundário atendidos em Hospital Público de Fortaleza/CE In: XII Semana Universitária da Universidade Estadual do Ceará, 2008, Fortaleza.

XII Semana Universitária da Universidade Estadual do Ceará. , 2008.

Áreas do conhecimento : Análise Nutricional de População

Referências adicionais : Brasil/Português. Meio de divulgação: Outro

8. **SANTOS, L. B.**, BARROSO, C. F., FEIJAO, I. E. P., CAMARGO, I. A., MELO, M. V. C., PEREIRA, M. V.

AVALIAÇÃO DA QUALIDADE HIGIÊNICO-SANITÁRIA DE *Allium fistulosum* (cebolinha) e *Coriandrum sativum* (coentro) COMERCIALIZADAS EM SUPERMERCADOS, MERCEARIAS, E VENDEDORES AMBULANTES NO MUNICÍPIO DE FORTALEZA, CEARÁ In: XI Semana Universitária da UECE, 2006, Fortaleza.

AVALIAÇÃO DA QUALIDADE HIGIÊNICO-SANITÁRIA DE *Allium fistulosum* (cebolinha) e *Coriandrum sativum* (coentro) COMERCIALIZADAS EM SUPERMERCADOS, MERCEARIAS, E VENDEDORES AMBULANTES NO MUNICÍPIO DE FORTALEZA, CEARÁ. , 2006.

Referências adicionais : Brasil/Português.

Apresentação de trabalho e palestra

1. **SANTOS, L. B.**, ALMEIDA, I. S., MAIA, C. S. C., ALMEIDA, P. C., BARROSO, C. F., SILVA, G. B., COZZOLINO, S. M. F.

Evolução ponderal de pacientes em terapia nutricional enteral domiciliar: relação com o tipo de fórmula, 2012. (Congresso, Apresentação de Trabalho)

Referências adicionais : Brasil/Português. Meio de divulgação: Impresso; Local: SEHRS Natal Grand Hotel; Cidade: Natal; Evento: Encontro SBAN: Nutrição Clínica; Inst.promotora/financiadora: SBAN - Sociedade Brasileira de Alimentação e Nutrição

2. BARROSO, C. F., **SANTOS, L. B.**, PESSOA, P. P., VIEIRA, E. D. K. F., MONTENEGRO JUNIOR,

R. M., COZZOLINO, S. M. F., PIRES, L. V., NISHIMURA, L. S., MAIA, C. S. C.

Minerais com Função Antioxidante e Distúrbios da Tireóide: Avaliação do Consumo Alimentar em Pacientes Atendidos em um Hospital Público de Fortaleza/CE., 2011. (Congresso,Apresentação de Trabalho)

Referências adicionais : Brasil/Português. Meio de divulgação: Impresso; Local: Fortaleza; Cidade: Fortaleza; Evento: 11º Congresso Nacional da SBAN; Inst.promotora/financiadora: SBAN - Sociedade Brasileira de Alimentação e Nutrição

3. **SANTOS, L. B., BARROSO, C. F., MAIA, C. S. C., COZZOLINO, S. M. F., PIRES, L. V., PIMENTEL, J. A. C., PESSOA, P. P., VIEIRA, E. D. K. F.**

Selênio e Estresse Oxidativo em Indivíduos Saudáveis, 2011. (Congresso,Apresentação de Trabalho)

Referências adicionais : Brasil/Português. Meio de divulgação: Impresso; Local: Fortaleza; Cidade: Fortaleza; Evento: 11º Congresso Nacional da SBAN; Inst.promotora/financiadora: SBAN - Sociedade Brasileira de Alimentação e Nutrição

4. **SANTOS, L. B., MENEZES, N. V. S. de, MAGALHAES, V. M.**

Demonstração de Métodos de Análise de Leite, 2006. (Outra,Apresentação de Trabalho)

Referências adicionais : Brasil/Português. Meio de divulgação: Outro; Local: UECE; Cidade: Fortaleza; Evento: X Encontro de Monitoria; Inst.promotora/financiadora: PROMAC

Eventos

Participação em eventos

1. **V Congresso Brasileiro de Nutrição Integrada (CBNI) e Ganepão 2013, 2013.** (Congresso)

Atividade da enzima GPX como biomarcador da ingestão de selênio em uma população adulta.

2. **IX Congresso Internacional de Nutrição Clínica Funcional e Nutrição Esportiva Funcional Nu, 2013.** (Congresso)

3. **Congresso Brasileiro de Pré, Pró e Simbióticos, 2013.** (Congresso)

4. **12º Congresso da Sociedade Brasileira de Alimentação e Nutrição, 2013.** (Congresso)

5. **8º Simpósio de Síndrome Metabólico Hospital das Clínicas da FMUSP, 2013.** (Simpósio)

6. **XVII Congresso Brasileiro de Nutrologia, 2013.** (Congresso)

7. Apresentação de Poster / Painel no(a) **Encontro SBAN: Nutrição Clínica, 2012.** (Congresso)

Evolução ponderal de pacientes em terapia nutricional enteral domiciliar: relação com o tipo de fórmula.

8. Apresentação de Poster / Painel no(a) **6th Congress of the International Society of Nutrigenetics/Nutrigenomics, 2012.** (Congresso)

GPx4 and Male Fertility.

9. **7º Simpósio de Síndrome Metabólica do Hospital das Clínicas da FMUSP, 2012.** (Simpósio)

10. **XV Congresso Brasileiro de Nutrologia, 2011.** (Congresso)

11. **7º Congresso Internacional GSSI - Nutrição e Atividade Física: a teoria que funciona na prática, 2010.** (Congresso)

12. **III Jornada de Nutrição e Saúde, 2009.** (Outra)

13. **10º Congresso da Sociedade Brasileira de Alimentação e Nutrição, 2009.** (Congresso)

14. **VIII Congresso Brasileiro de Transtornos Alimentares e Obesidade, 2009.** (Congresso)

15. **VIII Congresso Norte e Nordeste de Nutrição Enteral e Parenteral, 2008.** (Congresso)

16. **XIII Semana Universitária da UECE, 2008.** (Outra)

17. **I Encontro de Pesquisas em Nutrição da UECE**, 2007. (Encontro)
18. **Curso de Nutrição e Suplementação Esportiva**, 2007. (Outra)
19. **X ERENUT Encontro Regional dos Estudantes de Nutrição**, 2007. (Encontro)
20. **I Jornada de Nutrição e Saúde da UECE**, 2007. (Outra)
21. Apresentação de Poster / Painel no(a) **XI Semana Universitária da UECE**, 2006. (Outra)
AValiação da Qualidade Higiénico-Sanitária de Allium fistulosum (cebolinha) e Coriandrum sativum (coentro) Comercializadas em Supermercados, Mercarias, e Vendedores Ambulantes no Município de Fortaleza, Ceará.
22. Apresentação Oral no(a) **X Encontro de Monitoria da XI Semana Universitária da Universidade Estadual do Ceará**, 2006. (Outra)
 Demonstração de Métodos de Análise de Leite.
23. **Boas Práticas de Manipulação de Alimentos**, 2006. (Outra)
24. **II Pré-ENENUT**, 2006. (Encontro)
25. **XXIII Encontro Nacional dos Estudantes de Nutrição**, 2006. (Encontro)
26. **III Simpósio de Anemia e I Encontro de Anemia do Hospital Geral César Cals**, 2006. (Simpósio)
27. **II Congresso Internacional de Nutrição Clínica Funcional e I Congresso Brasileiro de Nutrição Esportiva Funcional**, 2006. (Congresso)
28. **Curso de Elaboração de Manual de Boas Práticas**, 2006. (Outra)

Organização de evento

1. SANTOS, L. B.

XXIV Encontro Nacional dos Estudantes de Nutrição, 2007. (Outro, Organização de evento)

Referências adicionais : Brasil/Português.

Totais de produção

Produção bibliográfica

Trabalhos publicados em anais de eventos.....	8
Apresentações de trabalhos (Congresso).....	3
Apresentações de trabalhos (Outra).....	1

Eventos

Participações em eventos (congresso).....	13
Participações em eventos (simpósio).....	3
Participações em eventos (encontro).....	4
Participações em eventos (outra).....	8
Organização de evento (outro).....	1