UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

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

Estado nutricional relativo ao zinco de pacientes com artrite reumatoide e sua relação com o estresse oxidativo e o polimorfismo Arg213Gli no gene da superóxido dimutase 3

Graziela Biude Silva

Dissertação para obtenção do grau de

MESTRE

Orientador:

Profa. Tit. Dra. 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

Estado nutricional relativo ao zinco de pacientes com artrite reumatoide e sua relação com o estresse oxidativo e o polimorfismo Arg213Gli no gene da superóxido dimutase 3

Graziela Biude Silva

Dissertação para obtenção do grau de

MESTRE

Orientador:

Profa. Tit. Dra. Silvia Maria Franciscato Cozzolino

SÃO PAULO 2013

Ficha Catalográfica

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

Silva, Graziela Biude

S586es Estado nutricional relativo ao zinco de pacientes com artrite reumatoide e sua relação com o estresse oxidativo e o polimorfismo Arg213Gli no gene da superóxido dimutase 3 / Graziela Biude Silva. -- São Paulo, 2013.

110p.

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

Orientador: Cozzolino, Silvia Maria Franciscato

1. Nutrição: Avaliação nutricional: Ciência dos alimentos 2. Zinco: Avaliação nutricional: Ciência dos alimentos 3. Artrite 4. Estresse oxidativo I. T. II. Cozzolino, Silvia Maria Franciscato, orientador.

641.1 CDD

Graziela Biude Silva

Estado nutricional relativo ao zinco de pacientes com artrite reumatoide e sua relação com o estresse oxidativo e o polimorfismo Arg213Gli no gene da superóxido dimutase 3

Comissão Julgadora da Dissertação para obtenção do grau de Mestre

Prof^a Tit. Dra. Silvia Maria Franciscato Cozzolino orientador/presidente

1º. examinador

2º. examinador

DEDICATÓRIA

Aos meus queridos e amados pais Claudia e Salvador, À minha irmã Isabela, Ao meu amor Mauricio.

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer aos meus pais, **Claudia e Salvador**, por tudo o que fizeram e fazem por mim! Esse trabalho não seria possível sem vocês! Mãe, obrigada por sempre me receber com aquele carinho e aquela comidinha deliciosa depois de um longo dia de trabalho e trânsito! Pai, sem você, sem suas caronas para casa naquele trânsito de cada dia, não sei se teria tido forças para realizar esse trabalho! Obrigada por me ensinarem tanto e me apoiarem em cada decisão em minha vida! Obrigada por tudo! Amo muito vocês!

À minha querida irmã **Isabela Biude Silva**, por sempre estar ao meu lado, me ajudando, incentivando! Saiba que adoro nossas discussões cientificas... mesmo quando não concordamos em certos pontos! Irmãs, nutri e farma! Estaremos sempre juntas! Obrigada por todo carinho e preocupação! Amo você Sis!

Ao meu companheiro, melhor amigo e grande amor **Mauricio Duarte**. Você foi mais que essencial para que eu conseguisse realizar este grande sonho! Obrigada por resgatar na USP várias vezes tarde noite, pelas idas e vindas de Guarulhos à Universidade nos momentos de intenso trabalho e cansaço. Obrigada por entender o meu mau humor, o meu desespero em vários momentos, a distancia necessária...e também pelas inúmeras conversas, conselhos, pelas risadas de doer a barriga, por me dizer que tudo vai dar certo e por estar sempre ao meu lado, me apoiando em todas as minhas decisões e torcendo junto em todos os momentos da minha vida! TE AMO muito!

Á minha linda e querida orientadora **Silvia Maria Franciscato Cozzolino** que abriu as portas do universo cientifico ainda na iniciação cientifica e me deu a oportunidade de conhecer esse mundo fascinante da pesquisa! Obrigada por sempre me receber de braços abertos, com aquele sorriso acolhedor de mãe, dizer que tudo vai dar certo e apoiar cada passo que damos durante a pós-graduação. Obrigada pelas grandes oportunidades que nos dá, pela amizade e pela sua alegria que sempre nos contagia! Agradeço pela confiança de sempre! Com certeza levarei muito da sua personalidade tanto como professora como pessoa!

Á minha querida amiga e parceira de trabalho **Kátia Rau de Almeida Callou** que COM CERTEZA fez com esse trabalho se tornasse muito melhor e muito mais divertido! Acho que toda convivência tem altos e baixos, mas ainda bem que a nossa teve muitos altos!! Rsrsrs!! Obrigada por me ensinar tanta coisa, pela paciência, pelas inúmeras conversas...por me abrigar em sua casa nos dias de coleta! Quanta coisa boa vivenciamos

nesses anos de conviviencia! Adorei ir à França contigo! Obrigada pela sua linda amizade, que tenho certeza que levaremos para a vida toda, mesmo com a distância! Você é como uma irmã para mim! Obrigada por me ajudar a tornar esse sonho realidade! Vou sentir muitoooo, mas muitooo a sua falta...

Á minha mega best friend Janaina Lombello...amiga, obrigada por todos os seus ensinamentos desde a época da iniciação científica! Obrigada pelas conversas científicas, pelas broncas, pela sua linda sinceridade! Com certeza amigos de verdade fazem isso, apontam os erros, estão sempre ali quando você está triste, alegre...sempre ali para te fazer enxegar o que não vemos muitas vezes e pelas palavras de conforto, de ânimo! Te admiro muito como pessoa e como cientista! Você me ensinou muito! Nunca esquecerei isso! Obrigada por fazer dos meus dias no laboratório mais engraçados, mais alegres!!

À amiga **Kaluce Almondes**, desde quando você chegou me ensinou muita coisa! Obrigada pelos ensinamentos e pela sua boa vontade em nos ajudar nesse trabalho! Obrigadissima por me ajudar com a estatística deste trabalho, pela paciência que teve comigo e pelo apoio de sempre, dizendo que vai dar tempo e que tudo vai dar certo, e que o trabalho esta bom!! Rsrsrs!! Obrigada por estar sempre presente quando eu e Kátia estávamos em momentos de desespero, de cansaço. Obrigada de coração pela sua amizade tão terna! Você tem um lugar especial em meu coração!

Á minha mamis **Liliane Viana Pires**, pela linda amizade que proporciona...ah, quanta falta eu senti daqueles abraços nesses últimos tempos! Rs! Obrigada mãezinha por me ensinar a caminhar nesse mundo de pesquisa e pela sua amizade! Mesmo longe você está sempre em meus pensamento e orações!

Aos meus amigos do laboratório: Ariana Rocha, Alexandre Pimentel, Barbara Cardoso, Bruna Reis, Camila Mattos, Cristiane Cominetti, Isabela Saraiva, Larissa Bezerra, Luciane Alencar, Leila Hashimoto, Maritza Bortolo, Rafael Bueno, Veronica Bandeira. Obrigada pela troca de conhecimento que nos faz crescer como profissionais a cada dia e por tornarem meus dias muito mais alegres!!

Aos meus **amigos** de pós-graduação: Aline, Mayara, Kelly, Zá, Luiza, Mari, Rachel, Lucillia, Ju Miranda, Lucas, Ana Mara, Fê Santana, Fê Shinagawa, Pryscila, Ana Lina, Vivi, Cris Hermes, Juju Nunes, Geovana,...obrigada pela amizade, pelas conversas, risadas e torcida de todos vocês!!! Um presente que a pós-graduação nos dá: AMIGOS!

Aos **professores do departamento** Eduardo Purgatto, Thomas Ong e Célia Colli pelas contribuições feitas a este trabalho tanto no ingresso como na qualificação! Muito obrigada!

Ao **Dr. Daniel Feldman Pollak** por abrir as portas do ambulatório de reumatologia e permitisse que esse trabalho fosse realizado. Obrigado pela colaboração!

À recepcionista do ambulatório de reumatologia **Cida**. Obrigada pela ajuda nos dias de coleta, com os prontuários dos pacientes e pelo carinho que sempre recebeu a mim e Kátia!

À minha linda família **BIUDE**! Obrigada por vocês existirem em minha vida! A maior benção que Deus pode me dar! Sem vocês nada disso teria sentido! Vocês são mais que especias para mim! Minha vida! Amo muito vocês!

Aos meus grandes amigos e parceiros de quase uma década, **Andreza, Bruno e Mário**. Obrigada pela torcida e pela linda amizade de vocês! Obrigada por sempre estarem ao meu lado em todos os momentos...nos dias alegres, nos dias tristes...comemorando e por todas as palavras de incentivo! Vocês com certeza são amigos para uma vida inteira! Amo muitoo vocês!!

Aos meus amigos e que também considero minha família **Jéssica**, **Vitória**, **Cida e Cleber**. Obrigada pelo apoio de sempre, pela risadas e tantos momentos ótimos que passamos juntos! E pela amizade de tantos anos!!

Lourdinha, obrigada pelo cafezinho de todo dia!! Pelas conversas, pela amizade e os bons dias tão alegres!! Tudo de bom sempre!!

Ao pessoal da secretaria Edilson, Mônica, Cléo e Roberta por sempre serem atenciosos e que nos ajudam sempre!!

Ao Alan, da contabilidade, obrigada pela ajuda na prestação de contas, com os problemas de notas, e se isso pode ou não pode...obrigada!

À CAPES pela bolsa de mestrado.

À FAPESP pelo financiamento do projeto de pesquisa.



SILVA, G.B. Estado nutricional relativo ao zinco de pacientes com artrite reumatoide e sua relação com o estresse oxidativo e o polimorfismo Arg213Gli no gene da superóxido dismutase 3. 2013. 110p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, 2013.

RESUMO

A artrite reumatoide (AR) é uma doença auto-imune de etiologia desconhecida caracterizada por uma inflamação poliarticular simétrica da membrana sinovial que acomete com maior frequência as articulações das mãos, punhos e pés. Estudos mostram que há um aumento do estresse oxidativo nestes pacientes e este fato pode ser atribuído à diminuição da ingestão de substâncias antioxidantes refletindo no aumento da produção de espécies reativas de oxigênio (ERO). Além disso, a presença de polimorfismos em enzimas antioxidantes como o Arg213Gli no gene da enzima superóxido dismutase 3 podem influenciar neste dano oxidativo. Portanto, o estudo teve como objetivo avaliar o estado nutricional relativo ao zinco de pacientes com artrite reumatoide e sua relação com o estresse oxidativo e o polimorfismo Arg213Gli no gene da SOD3. Foram selecionadas 59 mulheres diagnosticadas com AR (59,9±18,3 anos) atendidas no Setor de Reumatologia do Hospital São Paulo/Universidade Federal de São Paulo, que fizeram parte do grupo caso, e 56 mulheres saudáveis (35,5±9,9 anos) recrutadas no campus da Universidade de São Paulo, que fizeram parte do grupo controle. A coleta de sangue venoso foi destinada para avaliação das concentrações plasmática e eritrocitária de zinco, da atividade das enzimas glutationa peroxidase (GPx) e superóxido dismutase (SOD), e do polimorfismo Arg213Gli. A urina de 24 horas foi coletada para as análises de zinco, creatinina e 8-isoprostanos. A avaliação do consumo dietético de zinco foi feita por meio de três recordatórios alimentares de 24 horas. A análise estatística foi feita no software SPSS 14.0 por meio de testes de comparações de médias e correlações selecionados de acordo com a distribuição da normalidade e considerando p significativo menor que 5%. As concentrações plasmáticas de zinco foram significativamente menores para o grupo caso quando comparadas ao grupo controle (53,4±9,8 µg/dL e 58,2±10,1 µg/dL, respectivamente; p=0,011). Com relação às concentrações de zinco eritrocitário e urinário não houve diferença significativa entre os grupos (p=0,219 e p=0,695, respectivamente). O percentual de inadequação do consumo de zinco foi de 98,9% para o grupo caso e 58% para o grupo controle. A atividade da SOD foi significativamente menor no grupo caso (1333,8 ±420,8 U/gHb) do que no grupo controle (1755,0 ±525,5 U/gHb) (p<0,001), assim como a atividade da GPx (38,2 ±17,0 U/gHb e 52,6 ±14,4 U/gHB, respectivamente) (p<0,001). As concentrações de 8-isoprostanos não diferiram entre os grupos caso e controle, (133,8 ±175,4 ng/mmol de creatinina e 139,3 ± 52,7 ng/mmol de creatinina; p=0,836, respectivamente). Em relação à genotipagem do SNP Arg213Gli não foi encontrado nenhuma participante com o genótipo homozigoto (Gli/Gli) para o polimorfismo. No grupo caso, apenas uma participante apresentou o genótipo heterozigoto (Arg/Gli). Os resultados apresentados indicam que as pacientes com AR estão deficientes em zinco e apresentam um aumento do estresse oxidativo, sugerindo a necessidade de uma suplementação deste mineral.

Palavras-Chave: Artrite Reumatóide. Zinco. 8-isoprostano. Estresse Oxidativo.

SILVA, G.B. Nutritional status of zinc in patients with rheumatoid arthritis and its relationship with oxidative stress and Arg213Gli polymorphism in the superoxide dismutase 3 gene. 2013. 110p. Major's Thesis – Faculty of Pharmaceutical Science, University of São Paulo, São Paulo, 2013.

ABSTRACT

Rheumatoid arthritis (RA) is an autoimmune disease of unknown etiology characterized by a symmetrical polyarticular inflammation of synovial membrane that affects most often the joints of the hands, wrists and feet. Studies show that there is an increase of oxidative stress in these patients and this fact can be attributed to decreased intake of antioxidants reflecting in the increased production of reactive oxygen species (ROS). Furthermore, the presence of polymorphisms in antioxidant enzymes such as Arg213Gli in the superoxide dismutase gene may influence this oxidative damage. Thus, the study aimed to evaluate the nutritional status of zinc in patients with rheumatoid arthritis and its relation to oxidative stress and the polymorphism Arg213Gli in SOD3 gene. We selected 59 women diagnosed with RA (59.9 ± 18.3 years) which make clinical monitoring at the Hospital São Paulo/Federal University of São Paulo, who were part of the case group, and 56 healthy women (35.5 \pm 9, 9 years) recruited on the campus of the University of São Paulo, who were part of the control group. The venous blood collection was destined to evaluate plasma and erythrocyte zinc, activity of glutathione peroxidase (GPx) and superoxide dismutase (SOD), and the polymorphism Arg213Gli. The 24-hour urine was collected for the analyzes of zinc, creatinine and 8isoprostane. The assessment of dietary intake of zinc was performed by three 24-hour dietary recall. Statistical analysis was performed with SPSS 14.0 by testing of mean comparisons and correlations selected according to the distribution of normality and considering significant p less than 5 %. The plasma zinc concentrations were significantly lower in the case group compared to the control group (53.4 \pm 9.8 μ g/dL and 58.2 \pm 10.1µg/dL, respectively, p= 0.011). In relation to the concentrations of erythrocyte and urinary zinc, no significant difference was observed between groups (p= 0.219 and p=0.695, respectively). The percentage of inadequate zinc intake was 98.9% for the case group and 58% for the control group . The SOD activity was significantly lower in the case group $(1333.8 \pm 420.8 \text{ U/gHb})$ than in the control group $(1755.0 \pm 525.5 \text{ U/gHb})$ (p < 0.001), as well as the activity of GPx (38.2 \pm 17.0 U/gHb and 52.6 \pm 14.4 U/gHb, respectively) (p< 0.001). The 8-isoprostane concentrations did not differ between case and control groups (133.8 ± 175.4 ng/mmol creatinine and 139.3 ± 52.7 ng/mmol creatinine, p= 0.836, respectively). Regarding Arg213Gli SNP genotyping was not found any participant with the homozygous genotype (Gly/Gly) for the polymorphism. In case group, only one participant had the heterozygous genotype (Arg/Gly). The presented results indicate that RA patients are deficient in zinc and have an increased oxidative stress, suggesting the need for a supplementation of this mineral.

Keywords: Rheumatoid Arthritis. Zinc. 8-isoprostane. Oxidative Stress.

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	16
2.	REVISÃO DA LITERATURA	18
2.1	Artrite Reumatoide	18
2.1.	1 Fisiopatogênese da Artrite Reumatoide	22
2.2	Estresse Oxidativo e Artrite Reumatoide	24
2.3	Zinco	27
2.3.	1 Aspectos Gerais e Fisiológicos	27
2.3.	2 Função Antioxidante e Anti-inflamatória	28
2.3.	3 Fontes de Zinco	30
2.3.	4 Recomendação de Ingestão e Parâmetros de Avaliação Nutricional relativ	vos
ao Z	Zinco	31
2.4	Superóxido dismutase 3	32
3.	HIPÓTESES EXPERIMENTAIS	37
4.	OBJETIVOS	38
4.1	Geral	38
4.2	Específicos	38
5.	CASUÍSTICA	39
5.1	Aspectos Éticos	39
5.2	Amostragem e seleção da amostra	39
5.3	Protocolo Experimental	40
6.	MATERIAIS E MÉTODOS	43
6.1	Avaliação Antropométrica	43
6.1.	1 Peso	43
6.1.	2 Estatura	43
6.1.	3 Índice de Massa Corpórea (IMC)	43
6.1.	4 Bioimpedância Elétrica	43
6.2	Avaliação do Consumo Alimentar	44
6.3	Coleta de Material Biológico	44
6.3.	1 Sangue	44
6.3.	2 Urina de 24 horas	45
6.3.	3 Controle de Contaminação	45
6.4	Análises Bioquímicas	45
6.4.	1 Parâmetros bioquímicos para avaliação de zinco	45

6.4.1.1 Determinação de zinco no eritrócito	45
6.4.1.2 Determinação de zinco no plasma	46
6.4.1.3 Determinação de zinco na urina	46
6.4.2 Determinação da atividade enzimática	46
6.4.2.1 Superóxido dismutase	46
6.4.2.2 Glutationa peroxidase	47
6.4.3 Determinação da concentração de isoprostanos (8-iso PGF2α) urinário	47
6.4.4 Determinação da creatinina urinária	47
6.4.5 Determinação da Capacidade Total de Ligação do Ferro, Transferri	ina,
Saturação da Transferrina e Ferro Sérico	48
6.4.6 Determinação da proteína C reativa (PCR), velocidade	de
hemossedimentação (VHS) e albumina sérica	48
6.4.7 Determinação da fração lipídica	48
6.4.8 Determinação do risco cardiovascular	49
6.4.9 Determinação do polimorfismo Arg213Gli no gene da SOD3	49
6.5 Análise Estatística	49
7. RESULTADOS E DISCUSSÃO	51
8. CONCLUSÃO	76
9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	77
ANEXO 1 - DOCUMENTO: INFORMAÇÕES PARA OS MEMBROS DE BAN	CA
JULGADORAS DE MESTRADO E DOUTORADO	94
ANEXO 2 – PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA FCF/USP;	94
ANEXO 3 – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE);	94
ANEXO 4 – CURRÍCULO LATTES;	94
ANEXO 5 – FICHA DO ALUNO	94

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Frequência do acometimento das diferentes articulações no decorrer da
evolução da doença
Figura 2. Diagrama esquemático do NF-kB como um regulador inflamatório 23
Figura 3. O zinco como agente anti-inflamatório e antioxidante
Figura 4. Integração dos sistemas de defesa antioxidantes
Figura 5. Fluxograma das atividades desenvolvidas na pesquisa
Figura 6. Distribuição percentual do fator reumatoide e presença de erosões nas
pacientes com AR. São Paulo, 2013 51
Figura 7. Distribuição percentual da classificação da atividade da doença de acordo
com o DAS28 das pacientes com AR. São Paulo, 2013 53
Figura 8. Distribuição percentual de doenças associadas das pacientes com AR. São
Paulo, 2013 54
Paulo, 2013
Figura 9. Valores médios de energia total e da necessidade média estimada de
Figura 9. Valores médios de energia total e da necessidade média estimada de pacientes com AR e do grupo controle. São Paulo, 2013
Figura 9. Valores médios de energia total e da necessidade média estimada de pacientes com AR e do grupo controle. São Paulo, 2013
Figura 9. Valores médios de energia total e da necessidade média estimada de pacientes com AR e do grupo controle. São Paulo, 2013
Figura 9. Valores médios de energia total e da necessidade média estimada de pacientes com AR e do grupo controle. São Paulo, 2013
Figura 9. Valores médios de energia total e da necessidade média estimada de pacientes com AR e do grupo controle. São Paulo, 2013
Figura 9. Valores médios de energia total e da necessidade média estimada de pacientes com AR e do grupo controle. São Paulo, 2013

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Frequência dos genótipos do polimorfismo Arg213Gli no gene da EC-SOD
em diferentes populações. São Paulo, 2013
Tabela 2. Características da doença das pacientes com AR. São Paulo, 2013 51
Tabela 3. Concentrações séricas de proteína C reativa, velocidade de
hemossedimentação e albumina das pacientes com AR. São Paulo, 2013 52
Tabela 4. Medicamentos utilizados pelas pacientes com AR. São Paulo, 2013 54
Tabela 5. Avaliação nutricional e da composição corporal dos pacientes com AR e
do grupo controle. São Paulo, 2013
Tabela 6. Valores médios (DP) das concentrações séricas de colesterol total e
frações e dos índices de Castelli I e Castelli II. São Paulo, 2013 58
Tabela 7. Valores médios e desvio padrão da ingestão de energia, carboidrato,
proteína e lipídeo de pacientes com AR e do grupo controle. São Paulo, 2013 63
Tabela 8. Concentrações médias (DP) de zinco no plasma, eritrócito e urina das
pacientes com AR e do grupo controle. São Paulo, 2013 65
Tabela 9. Valores de hemoglobina, hematócrito, capacidade de ligação do ferro,
transferrina, saturação da transferrina e ferro sérico das pacientes com AR. São
Paulo, 2013
Tabela 10. Valores médios (DP) da atividade das enzimas SOD eritrocitária e GPx
no sangue total, 8-isoprostano e creatinina urinária das pacientes com AR e do
grupo controle. São Paulo, 2013 71

LISTA DE QUADROS

Quadro 1.	Valores	de corte	para os	índices	de	atividade	da	doença	DAS28,	CDAI e
SDAI. São	Paulo, 2	2013								21

1. INTRODUÇÃO

A artrite reumatoide (AR) é uma doença autoimune com etiologia desconhecida e caracterizada por uma inflamação poliarticular simétrica da membrana sinovial em grandes e pequenas articulações (KAHLENBERG; FOX, 2011; MCLNNES; SCHETT, 2007).

Embora a base fisiopatológica da AR não esteja completamente elucidada, estudos mostram um papel importante do estresse oxidativo nesta doença. A produção excessiva de espécies reativas de oxigênio (EROs) pode ser causada por vários fatores. Em resposta ao estimulo inflamatório, a presença de leucócitos fagociticos e de citocinas inflamatórias contribuem para uma maior produção de radicais livres, os quais estimulam a produção de radicais superóxido e hidroxila altamente reativos gerados durante a fagocitose por macrófagos e neutrófilos. Além disso, a presença de isquemia e reperfusão durante a realização do movimento articular também contribui para produção de radicais livres, que atuam como mediadores em danos teciduais na AR (BABIOR; KIPNES; KURNUTTE et al., 1973; KAMANLI et al., 2004; OZTÜRK et al., 1999).

O zinco, mineral importante na nutrição humana, desempenha papel importante como um antioxidante, através da participação como co-fator na estrutura da enzima superóxido dismutase (SOD), bem como na inflamação, inibindo a via de ativação do NF-κB e diminuindo a produção de citocinas pró-inflamatórias (MAFRA; COZZOLINO, 2004; PRASAD et al., 2010). A SOD participa do sistema de defesa antioxidante enzimático contra os radicais superóxido (•O₂-) e três isoformas desta enzima foram identificadas em mamíferos. Dentre elas destaca-se a superóxido dismutase 3 ou extracelular (EC-SOD). Esta isoforma é responsável pela proteção antioxidante no meio extracelular e contém um átomo de zinco e um de cobre por subunidade, ambos necessários para sua atividade enzimática (BARBOSA et al., 2010; FUKAI; USHIO-FUKAI, 2011). A EC-SOD é encontrada principalmente nos compartimentos extracelulares como plasma, linfa, fluido cerebrospinal e liquido articular e possui alta afinidade para a heparina e outros proteoglicanos na matriz extracelular. A presença de um polimorfismo de nucleotídeo único (SNP) no gene da EC-SOD, que consiste na troca do aminoácido arginina por uma glicina na posição 213, resulta em um prejuízo da ligação da enzima com a heparina. Como

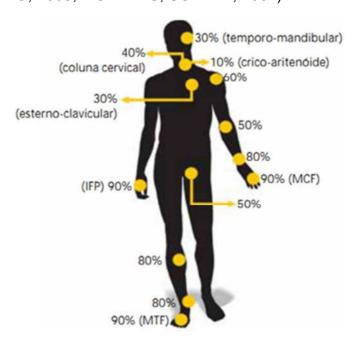
consequência, há um aumento da concentração plasmática desta enzima, resultando em uma redução da sua atividade na parede vascular e diminuindo a proteção antioxidante nos vasos (FATTMAN; SCHAEFER; OURY, 2003; SANDSTROM et al., 1994).

As diferenças nos perfis dos genótipos para a enzima EC-SOD com relação ao polimorfismo Arg213Gli podem ou não afetar a resposta antioxidante e o estado nutricional relativo ao zinco, uma vez que esta relação ainda não é bem conhecida. A frequência dos genótipos apresenta uma grande variabilidade entre as populações mundiais, sendo importante ressaltar que não existem estudos avaliando a frequência e a distribuição deste polimorfismo na população brasileira.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Artrite Reumatoide

A artrite reumatoide (AR) é uma doença autoimune de etiologia desconhecida, caracterizada por uma inflamação poliarticular simétrica da membrana sinovial que acomete com maior frequência articulações de mãos, punhos e pés (Figura 1). O quadro de inflamação pode resultar em uma lesão articular progressiva ocasionando degradação óssea e da cartilagem articular, até a perda da função (KAHLENBERG; FOX, 2011; LAURINDO, 2009; MCLNNES; SCHETT, 2007).



Legenda: MCF – metacarpofalangeanas; IFP – interfalangianas proximais; MTF – metatarsofalangeanas.

Fonte: Adaptado de LAURINDO, 2009.

Figura 1. Frequência do acometimento das diferentes articulações no decorrer da evolução da doença.

A AR é uma doença que acomete todas as etnias, com variações discretas e tem uma frequência maior entre mulheres do que em homens na proporção de 3:1. A doença pode ter início na faixa etária de 20 a 60 anos de idade, com uma maior incidência aos 45 anos. A prevalência mundial é de aproximadamente 0,4 a 1,9% na população adulta e, no Brasil, estima-se que essa porcentagem esteja ao redor de

0,46%. Uma maior prevalência foi observada em países como Estados Unidos e regiões da Europa e Ásia. Em algumas áreas rurais da África, esta frequência parece ser menor. Em países localizados na América do Norte e no norte da Europa a incidência de casos/habitantes de AR é de 50/100.000, enquanto que em países em desenvolvimento estes dados não estão disponíveis (ALARMANOS; DROSOS, 2005; FERNANDES et al., 2011).

A taxa de mortalidade entre estes pacientes é alta quando comparada com a população saudável. Este fato pode ser atribuído principalmente às doenças cardiovasculares. Entre os fatores de risco inerentes à própria doença que contribuem para a ocorrência de um evento cardiovascular estão: o uso de corticoides metrotexato, marcadores pró-trombóticos elevados fibrinogênio, fator de Von Willibrand e fator ativador de plasminogenio tecidual, elevação de citocinas pró-trombóticas, entre outros. Fatores externos e que podem estar presentes no inicio e/ou durante o desenvolvimento da AR como tabagismo, índice de massa corpórea elevado, hipertensão arterial, dislipidemia e diabetes também podem colaborar para o aumento deste risco. Estudos apontam que pacientes com AR apresentam risco duas vezes maior para o desenvolvimento de infarto agudo do miocárdio, aumentando ainda mais para aqueles que são portadores da doença há mais de dez anos (ALARMANOS; DROSOS, 2005; SOLOMON et al., 2003; WOLF et al., 2003).

Segundo ALARMANOS & DROSOS (2005), a AR é uma doença multifatorial que envolve também aspectos genéticos, os quais possuem grande impacto na avaliação da susceptibilidade para o desenvolvimento da doença. Os genes HLA-DR do complexo de histocompatibilidade maior estão fortemente associados à AR, participando da apresentação do antígeno às células T e contribuindo com 30 a 50% da susceptibilidade genética da doença. A associação destes genes é a maior evidência do papel da genética na patogênese e na frequência da AR. O epítopo compartilhado ou epítopo reumatoide é uma sequência de aminoácidos QK/RRAA (glutamina-leucina ou arginina-arginina-alanina-alanina) localizado nas posições 70 região hipervariável da cadeia na terceira β do antígeno histocompatibilidade de classe II HLA-DRB1. Este epítopo está associado à gravidade da doença, às formas erosivas e com as manifestações extra-articulares (LAURINDO, 2009; PEREIRA, 2006).

O diagnóstico da AR é feito com base nos critérios estabelecidos pelo American College of Rheumatology (ACR) descritos abaixo:

- 1. Rigidez matinal: rigidez articular com duração de pelo menos uma hora;
- 2. Artrite de três ou mais áreas: pelo menos três áreas articulares com edema de partes moles ou derrame articular, observado pelo médico;
- Artrite de articulações das mãos (punho, interfalangeanas proximais e metacarpofalangeanas);
 - 4. Artrite simétrica;
 - 5. Nódulo reumatoide;
 - Fator reumatoide sérico;
- 7. Alterações radiográficas: erosões ou descalcificações localizadas em radiografias de mãos e punhos.

Os quatro primeiros critérios, citados acima, devem estar presentes por pelo menos seis semanas para confirmação do diagnóstico da doença (ARNETT et al., 1988).

Além destes critérios, outras avaliações são necessárias para o diagnóstico da AR como: sinais clínicos, avaliações laboratoriais e radiográficas. O fator reumatoide (FR) é um parâmetro bioquímico com sensibilidade de 60 a 80%, e é utilizado para o diagnóstico de AR. Entretanto, o FR possui baixa especificidade, pois pode estar presente em outras doenças reumáticas, em infecções e em indivíduos idosos. Outro biomarcador utilizado, com alta especificidade, são os anticorpos antipeptídeos citrulinados cíclicos (anti-CCP), presentes em 79% dos pacientes e são observados no inicio da doença. A proteína C reativa (PCR) e a velocidade de hemossedimentação (VHS) também são utilizadas tanto no diagnóstico quanto no acompanhamento clinico dos pacientes, indicando um pior estado clinico para aqueles que apresentam níveis elevados dos dois parâmetros. Além dos sintomas de atividade da doença, são avaliados o estado funcional do paciente, as evidências objetivas de inflamação articular, os problemas mecânicos articulares e a presença de comprometimento extra-articular e de lesão radiográfica. (BÉRTOLO et al., 2007; PERSINOTI, 2009; NETO; CARVALHO, 2009).

A atividade da doença pode ser avaliada por meio de parâmetros como: DAS28 (*Disease Activity Score 28*), SDAI (*Simplified Disease Activity Index*) e CDAI (*Clinical Activity Index*), comumente utilizados na prática clínica (Quadro 1)

(BÉRTOLO et al., 2007; FUJIWARA, KITA, 2012). Segundo o ACR (2002), recomenda-se que esta avaliação seja feita pelo menos a cada dois meses.

Quadro 1. Valores de corte para os índices de atividade da doença DAS28, CDAI e SDAI. São Paulo, 2013.

Índice	Atividade da Doença						
Indice	Remissão	Baixa	Moderada	Alta			
DAS28	< 2,6	< 3,2	< 5,1	> 5,1			
CDAI	< 2,8	< 10	< 22	> 22			
SDAI	< 5	< 20	< 40	> 40			

Fonte: Adaptado de BÉRTOLO et al., 2007

Legenda: DAS28 - Disease Activity Score 28; SDAI - Simplified Disease Activity Index; CDAI Clinical Activity Index.

Os objetivos do tratamento da AR são prevenir e controlar danos articulares, melhorar e manter a capacidade funcional, reduzir a dor e obter a remissão da doença (BÉRTOLO et al., 2007).

A terapia medicamentosa é o principal tratamento da AR e estão inclusos: os anti-inflamatórios não esteroides (AINHs), os corticoides e as drogas modificadoras do curso da doença (DMCDs), as quais podem ser sintéticas ou biológicas. Os AINHs, sobretudo no inicio da doença, são utilizados para diminuir o processo inflamatório e a dor. Com relação aos corticoides, além de exercer os mesmos benefícios dos AINHs, existem indícios de que atuam na modificação do curso da doença em associação com as DMCDs. As DMCDs são indicadas para impedir a progressão e o surgimento de lesões articulares permanentes e devem ser administradas a partir da definição do diagnóstico. Entre as DMCDs sintéticas está o metrotexato (MTX), considerado o principal fármaco utilizado no tratamento da AR. Outros fármacos sintéticos também estão disponíveis e são utilizados tanto na forma de monoterapia ou associado a outra DMCD para uma resposta ainda melhor ao tratamento. As DMCDs biológicas são consideradas um grande avanço na terapia medicamentosa da AR e são indicadas para pacientes que persistem com atividade da doença apesar do tratamento com pelo menos dois esquemas de DMCDs sintéticas. A utilização de agentes biológicos deve ser feita em associação a uma DMCD. Entre os fármacos aprovados pela ANVISA para uso no Brasil estão: o antiTNF, o depletor de linfócitos B, o bloqueador da coestimulação do linfócito T e o bloqueador do receptor de interleucina-6 (BÉRTOLO et al., 2007; KWOH, 2002; O´DELL, 2004; PEREIRA, 2006; MOTA et. al., 2012).

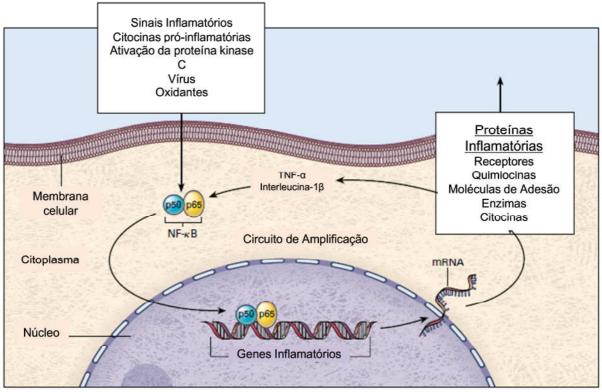
2.1.1 Fisiopatogênese da Artrite Reumatoide

No início da doença, a indução de uma resposta imune irá resultar em um quadro de inflamação no revestimento da articulação, denominado membrana sinovial. Esta membrana é constituída de macrófagos e fibroblastos, a qual mediante um aumento da entrada e proliferação destas células torna-se hiperplásica, produzindo citocinas inflamatórias como TNF-α, IL-1 e IL-8 que contribuem para a inflamação sinovial. A produção local de imunoglobulinas dos auto anticorpos formam um complexo imune, o qual reconhece antígenos articulares, como o colágeno tipo II e proteoglicanos, ou se ligam à porção Fc da imunoglobulina G (IgG) normal, também conhecida como fator reumatoide (SWEENEY; FIRESTEIN, 2004).

Além da hiperplasia, a membrana sinovial de pacientes com AR apresenta um aumento da vascularidade e um infiltrado de células inflamatórias, principalmente células T CD4+. Os antígenos ativos de células T CD4+ estimulam monócitos, macrófagos e fibroblastos sinoviais a produzirem citocinas inflamatórias. A produção de imunoglobulinas, também é estimulada por células B ativas, através da superfície de contato celular e da ligação da integrina $\alpha_1\beta_2$, CD154 e CD28 (CHOY; PANAVI, 2001).

As citocinas inflamatórias desempenham um papel importante em cada fase da patogênese da AR, promovendo a autoimunidade, o controle e a manutenção da inflamação crônica no sinóvio. Estes mediadores podem ser estimulados por células leucocitárias, como monócitos e macrófagos, fibroblastos e células T. Entre as citocinas atuantes na inflamação sinovial e que possuem um papel importante na patogênese da AR, destacam-se o TNF-α e a IL-1. O TNF-α é um importante promotor da inflamação e atua como um indutor de outras citocinas inflamatórias e fibroblastos a expressarem moléculas de adesão. A IL-1 estimula a liberação de metaloproteinases da matriz a partir de fibroblastos e condrócitos (KAHLENBERG; FOX, 2011; CHOY; PANAVI, 2001).

A regulação da inflamação sinovial é influenciada por estas citocinas, as quais ativam vias intracelulares de transdução e de fatores de transcrição como NF-κB, proteínas ativadas por mitógenos (MAP) e proteína ativadora 1 (AP-1). A ativação do NF-κB no sinóvio controla a expressão de genes inflamatórios na AR, como TNF-α, IL-1, IL-6, IL-8, ciclooxigenase 2 (COX-2), óxido nítrico induzível (iNOS) e moléculas de adesão intracelular 1 (ICAM-1). Sua ativação ocorre mediante a exposição à citocinas inflamatórias que levam à fosforilação do inibidor IkB via ativação da IkB kinase no sinoviócito, permitindo a translocação do NF-κB para núcleo e, consequentemente, a produção de citocinas inflamatórias (Figura 2) (SWEENEY; FIRESTEIN, 2004; HAN et al., 1999).



Fonte: adaptado de BARNES, KARIN, 1997.

NF- κ B= fator nuclear kappa B; TNF- α = fator de necrose tumoral alfa.

Figura 2. Diagrama esquemático do NF-kB como um regulador inflamatório.

A via das MAP kinases composta por ERK, JNK e família p38, ao serem expressas e fosforiladas no tecido sinovial reumatoide também aumentam a produção de citocinas inflamatórias e metaloproteinases. A AP-1, ativada pela MAP-kinase JNK encontra-se em regiões promotoras de vários genes envolvidos na AR. O componente c-JUN da AP-1, após sofrer estímulos dos sinoviócitos com a 23 | Graziela Biude Silva

presença de citocinas inflamatórias, é fosforilado pela JNK e este fator de transcrição ativo por sua vez, induz a uma maior expressão de proteases e citocinas, aumentando a resposta inflamatória (SWEENEY; FIRESTEIN, 2004).

Em consequência à liberação destas quimiocinas, ocorre a formação do pannus sinovial, caracterizado por um tecido de granulação inflamatório composto por células do sistema imune, vasos sanguíneos e células fibrosas, que invade a cartilagem articular com o auxílio de enzimas proteolíticas. Em paralelo, dentro do pannus, os osteoclastos são formados através da fusão de células monocíticas e invadem a massa óssea, causando erosões periarticulares (KAHLENBERG; FOX, 2011; MCLNNES; SCHETT, 2007).

Em relação ao dano articular causado pela inflamação persistente na AR, mecanismos distintos são sugeridos para a compreensão da causa de lesões ósseas e articulares. A destruição da cartilagem é mediada, na maior parte, pela indução de proteases pelos sinoviócitos e invasão celular de citocinas para dentro da matriz (SWEENEY; FIRESTEIN, 2004).

A erosão óssea na AR está relacionada com a reabsorção óssea mediada por osteoclastos e é regulada pelo sistema RANK/RANKL. Os osteoclastos presentes entre o tecido sinovial e o osso articular induzem a reabsorção óssea, permitindo a invasão destas células na membrana sinovial, resultando na formação do *pannus*. O RANKL é expresso por células como fibroblastos e células T ativas e regulada por citocinas inflamatórias (TNF-α, IL-1β, IL-6 e IL-17) e seus mediadores, como a prostaglandina E₂. Este processo contribui para a maturação e ativação de osteoclastos. Assim, o RANKL induz a diferenciação final de osteoclastos e sua atividade de reabsorção óssea. A interação com seu receptor RANK é modulada pela osteoprogeterina (OPG), expressa pelas células mesenquimais no sinóvio de indivíduos com AR. Um desequilíbrio entre a OPG e a expressão de RANKL promove a perda óssea induzida pelo RANKL (MCLNESS; SCHETT, 2007).

2.2 Estresse Oxidativo e Artrite Reumatoide

O estresse oxidativo ocorre em decorrência de um desequilíbrio entre a geração de compostos oxidantes e mecanismos fisiológicos de defesa antioxidantes (BARBOSA et al., 2010). As EROs são moléculas que contém oxigênio e que podem

ter elétrons despareados, tornando-se altamente reativas em tecidos. Os radicais livres são espécies químicas que possuem um ou mais elétrons não pareados na ultima camada, conferindo alta reatividade a estes átomos ou moléculas. Os principais radicais livres formados no organismo são o ânion superóxido (•O₂⁻), o radical hidroxila (•OH) e o peróxido de hidrogênio (H₂O₂) (HALLIWEEL; CHIRICO, 1993; FERREIRA; MATSUBARA, 1997; SHAMI; MOREIRA, 2004; BARBOSA et al., 2010).

Estudos mostram que há um aumento do estresse oxidativo nos pacientes com AR, sugerindo um papel importante deste processo na patogênese da doença. (KAMANLI et al., 2004; KARATAS et al., 2003; SEVEN et al., 2008; ÖZTÜRK et al., 1999). Os principais fatores que contribuem para esta condição são a inflamação crônica, a presença de isquemia e reperfusão durante o movimento articular e a capacidade de defesa antioxidante diminuída (FILIPPIN et al., 2008).

A indução de uma resposta imune no início da doença resulta em um quadro de inflamação na membrana sinovial, levando à produção de mediadores inflamatórios, como citocinas, quimiocinas, prostaglandinas, entre outros, produzidas por macrófagos e neutrófilos (MCLNNES; SCHETT, 2007; SWEENEY; FIRESTEIN, 2004). A presença destes leucócitos fagocíticos em grande quantidade na mucosa inflamada produz uma maior quantidade de radicais livres em resposta ao estimulo inflamatório. A ativação de neutrófilos mediante a presença de citocinas pró-inflamatórias é realizada pelo sistema enzimático adenina nicotinamida dinucleotideo fosfato (NADPH). Este processo contribui para produção de EROs por meio do aumento do consumo de oxigênio durante a resposta inflamatória, produzindo radicais superóxido e hidroxila altamente reativos, que irão atuar como mediadores de lesão tecidual na doença (BRUCKER; IZZO; CHU, 2005; FILIPPIN et al., 2008; KAMANLI et al., 2004; OZTÜRK et al., 1999; SARBAN, et al., 2005; SEVEN et.al, 2008).

As lesões de isquemia e reperfusão nas articulações também estão envolvidas no processo de estresse oxidativo. A pressão intra-articular é maior nas articulações reumáticas possivelmente devido à redução da complacência da parede articular, causada pelo inchaço na membrana sinovial e na fibrose da cápsula articular. Com a densidade capilar reduzida e a taxa metabólica tecidual elevada, o aumento da pressão pode diminuir o fluxo capilar e induzir a repetitivas lesões de

isquemia-reperfusão na articulação. Esta lesão tecidual pode liberar íons de ferro e cobre que atuam como catalisadores em reações de formação de radicais livres (CEDERGREN et al., 2007; HITCHON; EL-GABALAWT, 2004; JAYSON; DIXON, 1970).

Outra fonte de formação de radicais livres produzidas durante a patogênese da AR ocorre com a reabsorção óssea. Os osteoclastos, durante este processo, produzem radicais ${}^{\bullet}O_2^{-}$, os quais desempenham papel importante na degradação óssea e da cartilagem. A presença de citocinas inflamatórias, como a IL-1 β , aumentam ainda mais os efeitos prejudiciais causados por este radical (FILIPPIN et al., 2008).

Segundo dados na literatura, o sistema de defesa antioxidante nestes pacientes pode estar prejudicado. Este fato pode ser observado por alterações na atividade de enzimas antioxidantes (SOD, GPx e catalase), geralmente ocasionadas por uma diminuição da ingestão de nutrientes tais como selênio, zinco, ácido ascórbico e α-tocoferol, que atuam neste sistema. Este desequilíbrio pode resultar em danos ao DNA, oxidação de lipídeos e proteínas, assim como no aumento e na formação de produtos derivados da peroxidação lipídica como por exemplo, o malondialdeído (MDA), os isoprostanos e os dienos conjugados (HAGFORS et al., 2003; KURIEN; SCOLFIELD, 2003; MAHAJAN; TANDON, 2004).

A peroxidação lipídica está envolvida na patogênese de várias doenças como câncer, aterosclerose e artrites inflamatórias, como a AR, e é a principal forma de reação biológica em cadeia de formação de radicais livres. O inicio deste processo ocorre com a interação entre radicais altamente reativos e lipídeos, os quais irão remover um átomo de hidrogênio destas moléculas resultando na formação de um radical lipídico. Este composto pode sofrer um rearranjo molecular decorrente da reação com o oxigênio gerando o radical peroxil, que por sua vez pode interagir com outros radicais ou atacar proteínas de membrana, e propagar a reação em cadeia (VASANTHI; NALINI; RAJASEKHARL, 2009; HALLIWELL, CHIRICO, 1993).

Além da degradação da matrix óssea, a oxidação de lipídeos também contribui para a aceleração de um evento aterosclerótico em pacientes com AR. O aumento de citocinas inflamatórias promove lipólise, e, a liberação sistêmica de ácidos graxos livres contribui para um quadro de dislipidemia nestes pacientes. A oxidação da LDL e produtos finais de glicosilação avançada (AGE) promovem uma

super-regulação das moléculas de adesão e quimiocinas contribuindo para o quadro inflamatório (HITCHON, EL-GABALAWY, 2004).

2.3 Zinco

2.3.1 Aspectos Gerais e Fisiológicos

O zinco é um elemento-traço essencial e de grande importância para a nutrição humana. Em 1934, a essencialidade do zinco foi demonstrada em ratos e, em 1955, em seres humanos, com o reconhecimento pela comunidade científica, que até então não considerava a possibilidade de deficiência deste elemento. Então, em 1961, no Egito foi documentada pela primeira vez a ocorrência de deficiência de zinco em humanos (PRASAD, 2001; SALGUEIRO et al., 2000).

O conteúdo de zinco no organismo varia de 1,5 a 2 g, estando distribuído em cerca de 85% nos músculos e ossos, com o restante no sangue, sendo 80% nos eritrócitos e 16% no plasma (SANDSTRÖM, 1997; VALLE; FALCHUK, 1993).

Com relação ao seu metabolismo, o zinco é absorvido no segmento proximal do intestino delgado, sendo este processo dependente da sua concentração no lúmen. A captação deste elemento pela borda em escova do enterócito é regulada homeostaticamente por meio de dois mecanismos de transporte: difusão simples e processo mediado por carreadores, que variam de acordo com a concentração deste mineral proveniente da dieta. O transporte mediado por carreadores prevalece diante de baixas concentrações de zinco na dieta, enquanto a absorção por difusão simples predomina quando a concentração deste mineral é elevada. A absorção do zinco dietético tem sido estimada em 20 a 40%. Após a absorção, o zinco é liberado da célula intestinal através da membrana basolateral por meio de transportadores. Em seguida, passa pelos capilares mesentéricos e é transportado para o sangue portal (carreado pela albumina, ou ainda, por α-macroglobulina, transferrina, cisteína ou histidina), de onde é captado pelo fígado e distribuído aos demais tecidos. A principal via de excreção de zinco é pelas fezes, podendo ocorrer perdas também por descamação epitelial, cabelo e ciclo menstrual (CHUNG; STOOKEY; DARE, 2008; COUSINS; MCMAHON, 2000; GEISSLER, 2005; JACKSON, 1989; KREBS; HAMBRIGE, 2001).

A manutenção da homeostase do zinco é feita no sistema gastrointestinal, especificamente no intestino delgado, fígado e pâncreas e é regulada por duas proteínas, a proteína intestinal rica em cisteina (CRIP) e a metalotioneína (MT). Diante da deficiência do mineral, a CRIP presente na mucosa intestinal desempenha função de carreador intracelular, ligando-se ao zinco quando este atravessa o meio extracelular para o citosol do enterócito e passa por difusão em direção à membrana basolateral. A metalotioneína, que regula a ligação do zinco com a CRIP, inibe a absorção do mineral em concentrações elevadas. Uma regulação na excreção renal também ocorre mediante uma ingestão muito alta ou muito baixa de zinco, ocasionando uma redistribuição tecidual e celular de zinco para favorecer a homeostase (HEMPE; COUSINS, 1992; HENRIQUE; HIRATA; COZZOLINO, 2003; KING; SHAMES; WOODHOUSE, 2000; MAFRA; COZZOLINO, 2004).

Alterações fisiológicas, tais como desnutrição energético-proteica, insuficiência renal crônica, queimaduras e anemia falciforme, também podem interferir na absorção e no transporte de zinco e ocasionar uma deficiência deste mineral. As manifestações clínicas mais comuns da deficiência de zinco são: anorexia, alteração do paladar e do comportamento, intolerância à glicose, hipogonadismo, disfunções imunológicas, hipogeusia, retardo no crescimento e atraso na maturação sexual (MOCCHEGIANE et al., 1995; PRASAD, 2009; SALGUEIRO et al., 2000).

2.3.2 Função Antioxidante e Anti-inflamatória

O zinco desempenha funções importantes em nosso organismo, participando na integridade e na proteção de membranas celulares, prevenção da peroxidação lipídica e atuando como componente estrutural e funcional de várias metaloenzimas e metaloproteínas. Além disso, participa de reações do metabolismo celular que envolvem processos fisiológicos, como por exemplo, no sistema de defesa antioxidante (MAFRA; COZZOLINO, 2004; PARKIN, 2004; SZCKUREK; BJORNSSON; TAYLOR, 2001).

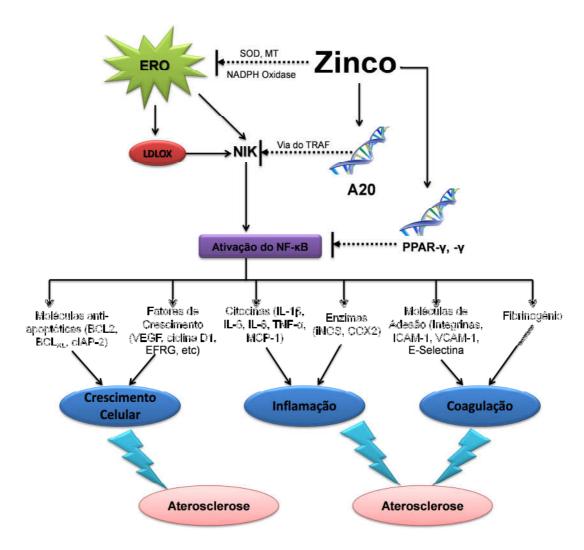
Uma deficiência de zinco a longo prazo torna o organismo mais suscetível a lesões causadas pelo estresse oxidativo induzido pela produção de radicais livres e pela inflamação crônica. Esta condição de deficiência aumenta os níveis de

peroxidação lipídica nas membranas mitocondriais e a fragilidade osmótica das membranas de hemácias (TAPIERO; TEW, 2003; VALLEE; FALCHUK, 1993).

O papel do zinco no sistema de defesa antioxidante pode ser atribuído a três mecanismos:

- <u>Indução da expressão de metalotioneína (MT)</u>: esta proteína, em condições de estresse oxidativo e inflamação crônica, atua na regulação da transferência de átomos de zinco para outras proteínas antioxidantes zinco-dependentes. Além disso, auxilia na destoxificação de metais pró-oxidantes como cobre e ferro por meio de grupamentos sulfidrilas.
- <u>Proteção de grupamentos sulfidrilas de proteínas de membranas celulares</u>:
 atua na defesa contra oxidação e inibição de produtos de EROs por antagonismo com metais de transição pró-oxidantes (ferro e cobre).
- <u>Superóxido dismutase</u>: participa como cofator da enzima SOD presente no citoplasma, compartimentos nucleares, mitocôndrias e lisossomos de todas as células. Esta enzima, por meio da reação de dismutação, catalisa a transformação do radical •O₂, em H₂O₂, uma ERO menos prejudicial à célula. (KLOTZ et al., 2003; MARREIRO, 2013).

Estudos relatam que o zinco atua também como um anti-inflamatório por meio de sua participação na cascata do NF-κB, inibindo a sua ativação através de uma proteína dedo de zinco denominada A20. A proteína A20 inibe a expressão de TNF-α e IL-1β induzidas pela ativação do NF-κB por meio da via do TRAF (Figura 3). Outro mecanismo pelo qual o zinco pode inibir essa ativação é através da diminuição da enzima fosfodiesterase-1, e do aumento do monofosfato de guanosina cíclico, acarretando em um aumento da ativação da proteína kinase A, que por sua vez, inibe a ativação do NF-κB (HEYNINCK; BEYAERT, 1999; KRIKOS; LAHERTY; DIXIT, 1997; PRASAD, 2008; PRASAD et al., 2010).



Fonte: adaptado de PRASAD,2008.

Legenda: ERO= espécie reativa de oxigênio; SOD= superóxido dismutase; MT= metalotioneína; LDLox= LDL oxidada; NF-kB= fator nuclear kappa B; NIK= indutor de NF-κB kinase; TRAF= fatores associados ao receptor de TNF; PPAR-γ= receptor ativado por proliferadores de peroxissoma gama; VEGF= fator de crescimento do endotélio vascular; EGFR= receptor do fator de crescimento epidérmico; IL= interleucina; iNOS= óxido nítrico sintase induzida; COX= ciclooxigenase. ICAM-I= molécula de adesão intracelular I; VCAM-I= moléculas de adesão da célula vascular; cIAP-2= inibidor de apoptose celular de proteína 2; TNF-α= fator de necrose tumoral alfa; MCP-1= proteína quimiotática de monócitos 1.

Figura 3. O zinco como agente anti-inflamatório e antioxidante.

2.3.3 Fontes de Zinco

Entre as fontes alimentares que contribuem para ingestão de zinco estão ostras, mariscos, carnes de frango, bovina e de peixes, leite e derivados, legumes e tubérculos. Em geral, frutas e hortaliças e outros vegetais são fontes pobres em

zinco. Assim como outros nutrientes, a absorção de zinco pode ser afetada por fatores dietéticos tanto de forma prejudicial, como é o caso do tanino, fitato e oxalato, como de forma benéfica, como a presença de proteínas na dieta (LÖNNERDAL, 2000; YUYAMA et al., 2012).

2.3.4 Recomendação de Ingestão e Parâmetros de Avaliação Nutricional relativos ao Zinco

As recomendações de zinco estabelecidas para a população variam de acordo com o estágio de vida e gênero. A ingestão dietética recomendada (*Recommended Dietary Allowance/RDA*) para homens e mulheres adultos saudáveis é de 11 mg/dia e 8 mg/dia, respectivamente. O limite superior tolerável de ingestão (*Tolerable Upper Intake Level/UL*) estabelecido é de 40 mg/dia (IOM, 2001).

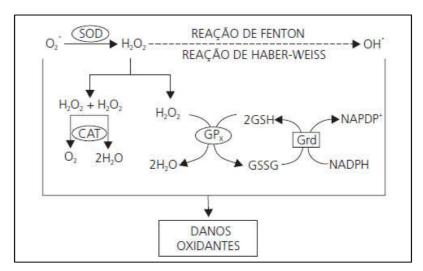
Além da dieta, o estado nutricional do individuo relativo ao zinco pode ser avaliado por meio de suas concentrações plasmáticas, eritrocitárias, urinárias e, ainda, por indicadores funcionais, como atividade de enzimas zinco-dependentes. As enzimas comumente avaliadas incluem as metaloenzimas, a linfócito 5'-nucleotidase derivada da célula de superfície CD73, a anidrase carbônica e a fosfatase alcalina (GIBSON, 1990). A concentração plasmática de zinco é o biomarcador mais utilizado nos estudos de avaliação do estado nutricional. O zinco ligado a proteínas como albumina, α-macroglobulina e aminoácidos é considerado fonte primária desse elemento para todas as células (EVANGELISTA, 2010). Alterações na concentração plasmática deste mineral podem ocorrer em virtude de estresse, infecções, inflamação, catabolismo, baixa ingestão, hipoalbuminemia, entre outros. A concentração de zinco no eritrócito, embora não seja um parâmetro bem estabelecido para avaliação do estado nutricional dos indivíduos em relação ao zinco, pode ser considerada um indicador para avaliação de alterações de médio a longo prazo. Estudos mostram ainda que a excreção urinária de zinco parece responder a alterações no estado nutricional dos indivíduos em relação a este mineral, entretanto é necessário que mais estudos confirmem esse fato (COMINETTI; GARRIDO; COZZOLINO, 2006; LOWE; FEKETE; DECSI, 2009; YUYAMA et al., 2012).

Estudos que relataram a deficiência de zinco em pacientes com AR utilizaram a concentração plasmática ou sérica como único biomarcador para determinação do estado nutricional dos pacientes relativo ao mineral. Associações positivas foram encontradas entre as concentrações de zinco e de albumina sérica, VHS e hemoglobina (ALA et al., 2009; BALOGH et al., 1980; HALIWELL et al.,1984; HONKANEN et al., 1991;MUSSALO-RAUHAMAA et al., 1988).

Ainda são escassos na literatura estudos que utilizam mais de um biomarcador para avaliação do estado nutricional relativo ao zinco de pacientes com AR e que correlacionam estes dados com a ingestão dietética. Neste caso, deve-se levar em consideração também a influência dos parâmetros de atividade da doença, o tratamento farmacológico e o nível de estresse oxidativo sobre as variáveis citadas anteriormente para uma melhor avaliação dos pacientes com AR com relação a este micronutriente.

2.4 Superóxido dismutase 3

A superóxido dismutase (SOD) é considerada a primeira e mais importante linha de defesa do sistema enzimático antioxidante. É a responsável por dismutar o ânion •O₂ em H₂O₂, que por sua vez é catalisado em H₂O pelas enzimas catalase, glutationas peroxidase e piroxirredoxinas (Figura 4). Atualmente, três isoformas desta enzima são conhecidas em mamíferos: SOD 1 (CuZn-SOD) ou citosólica; SOD 2 (MnSOD) ou mitocondrial e SOD 3 (EC-SOD) ou extracelular. Embora catalisem a mesma reação, as diferentes localizações destas isoformas são importantes para sinalização redox compartimentada (FUKAI; USHIO-FUKAI, 2011; ZELKO; MARIANI; FOLZ, 2002).



Fonte: BARBOSA, et al., 2010

Legenda: SOD= superóxido dismutase; H_2O_2 = peróxido de hidrogênio; O_2 - ânion superóxido; CAT= catalase; GPx= glutationa peroxidase; OH- radical hidroxila; H_2O = água ; GSH= glutationa reduzida; GSSG= glutationa oxidada; GRd= glutationa redutase; NADPH= fosfato de dinucleótido de nicotinamida e adenina; NAPDP=

Figura 4. Integração dos sistemas de defesa antioxidantes.

A EC-SOD é encontrada principalmente nos compartimentos extracelulares como plasma, linfa, fluido cerebroespinal e liquido articular. É uma glicoproteína levemente hidrofóbica, estável, com peso molecular de aproximadamente 135kDa e está presente em vários organismos como um tetrâmero. Esta enzima contém um átomo de cobre e um de zinco por subunidade e ambos são necessários para sua atividade enzimática. Além disso, possui alta afinidade com a heparina e outros proteoglicanos na matriz extracelular e membrana plasmática (KARLSSON; LINDAHL; MARKLUND, 1988; ENGHILD et al., 1999; TIBELL; SETHSON; BUEVICH, 1997; JENEY et al., 2005).

A EC-SOD é a principal enzima responsável por impedir danos oxidativos causados por radicais livres no meio extracelular. Esta isoforma está localizada no vaso sanguíneo, mais especificamente entre o endotélio e o músculo vascular. Sua expressão em células vasculares pode sofrer alterações em resposta a estímulos de citocinas, fatores de crescimento e estímulos vasoativos que incluem angiotensina II, óxido nítrico e homocisteína (FARACI; DIDION, 2004).

A atividade de enzimas antioxidantes como a SOD dependem na maioria das vezes da participação de cofatores enzimáticos, especialmente de origem dietética (BARBOSA et al., 2010). Estudos realizados em humanos e animais mostraram que

a ingestão dietética de zinco pode alterar a atividade da EC-SOD. Nos casos de baixa concentração plasmática do mineral, observou-se também uma baixa atividade da EC-SOD. A suplementação com zinco aumentou os níveis séricos do mineral, bem como a atividade da EC-SOD, sugerindo que esta enzima possa ser um possível biomarcador para avaliação do estado nutricional dos indivíduos em relação ao zinco. Entretanto, este parâmetro não pode ser utilizado em indivíduos que apresentam doenças renais, hepáticas e diabetes mellitus devido à atividade desta enzima ser elevada ou normal nestes pacientes (DAVIS; MILNE; NIELSEN, 2000).

MARKLUND et al. (1986) observaram que a EC-SOD é a principal isoenzima no fluido sinovial, representando 80% da atividade das superóxidos dismutase em indivíduos normais. Este estudo mostrou que em pacientes com AR, a atividade da EC-SOD estava reduzida em 50%. Entretanto, os estudos que avaliaram a atividade total da SOD e a EC-SOD ainda são controversos, apresentando grandes variações (FATTMAN et al., 2003; KARATAS et al. 2003; TAYSI et al., 2002).

O gene para EC-SOD humana está localizada no cromossomo 4 (região 4q21) com 3 éxons e 2 introns e compartilha de 40 a 60% de similaridade com o gene da SOD1 em nível de éxon. A região promotora contém vários elementos regulatórios, incluindo dois elementos de resposta antioxidante potencial, sítios de ligação AP-1 e elementos de resposta a xenobióticos (FOLZ; CRAPO, 1994; NOZICK-GRAYKE; SULIMAN; PIANTADOSI, 2005).

Em alguns indivíduos foi observada uma substituição do aminoácido arginina (Arg) por uma glicina (Gli) na posição 213 (códon 213 **C**GG→**G**GG) no centro do grupo terminal carboxila da EC-SOD em humanos. Esta alteração resulta em prejuízo na ligação da enzima com a heparina na superfície das células endoteliais, resultando em um aumento (cerca de 8 a 15 vezes) na concentração plasmática da enzima, com consequente redução da atividade antioxidante na parede vascular e diminuição da proteção antioxidante no vaso (ADACHI; WANG, 1998; ADACHI; YAMADA; YAMADA, 1996; FATTMAN et al., 2008; FOLZ; CRAPO, 1994).

A atividade enzimática da EC-SOD parece não estar alterada diante da presença do polimorfismo, entretanto observou-se uma relação entre esta mutação e a ocorrência de algumas doenças (SANDSTROM et al., 1994).

Estudos mostraram que há uma associação positiva entre o polimorfismo Arg213Gli e doença isquêmica do coração, polineuropatia diabética, polineuropatia amiloidótica familiar tipo 1 e aterosclerose em pacientes em hemodiálise. Este polimorfismo já foi relatado em populações australianas (3%), suíças (4%) e japonesas (6%) (JULL et al., 2004; NAKAMURA et al., 2005; SAKASHITA et al., 1998; SANDTRÖM et al., 1994; STROKOV et al., 2003).

A tabela 1 mostra a frequência dos genótipos em estudos que avaliaram este polimorfismo em algumas populações mundiais.

Tabela 1. Frequência dos genótipos do polimorfismo Arg213Gli no gene da EC-SOD em diferentes populações. São Paulo, 2013.

Autor	Ano	População de Estudo	Frequência Arg/Arg (%)	Frequência Arg/Gly (%)	Frequência Gly/Gly (%)
CHISTYAKOV et	2001	82 diabéticos com neuropatia	19,5%	61%	19,5%
al.		84 diabéticos sem neuropatia	25%	63,1%	11,9%
STROKOV et al.	2003	54 pacientes diabéticos com polineuropatia diabética	37%	59,2%	3,7%
		54 Controles	16,7%	64,8%	18,5%
ZOTOVA et al.	2003	86 diabéticos com polineuropatia diabética	27,9%	59,3%	12,8%
		94 diabéticos sem polineuropatia	9,7%	71%	19,3%
JUUL et al.	2004	9188 participantes do Copenhagen City Heart Study	97,6%	2,4%	0,02%
	2008	144 com ateroma significante			
SAMOILA et al.		150 sem ateroma significante	98,3%	1,7%	-
GRAMMER et 2009 3211 indivíduos com doença arterial coronariana		94,4%	5,5%	1,0%	

O presente trabalho levantou a hipótese de que poderia existir uma associação entre o estado nutricional do individuo relativo ao zinco, o estresse oxidativo, o polimorfismo Arg213Gli e a suscetibilidade para DCV nestes pacientes, já que não há estudos na literatura a respeito da associação destes parâmetros. Como já descrito anteriormente, a presença do alelo variante está associada a uma redução da afinidade da enzima EC-SOD com a heparina, diminuindo a proteção antioxidante nos vasos. Assim, o acúmulo de radicais livres na parede do endotélio

vascular pode levar à formação de placas de ateroma e, obstrução da artéria, aumentando ainda mais o risco para ur	
osomação da arteria, admentariae amaa maio e nece para ar	n overno dioreccionence.

3. HIPÓTESES EXPERIMENTAIS

Pacientes com AR apresentam níveis elevados de estresse oxidativo.

O estado nutricional dos pacientes com AR em relação ao zinco está alterado.

A atividade total da enzima superóxido dismutase varia em função do polimorfismo Arg213Gli no gene da EC-SOD.

A presença do alelo variante (Gli) aumenta os níveis de estresse oxidativo e o risco cardiovascular em pacientes com AR.

4. OBJETIVOS

4.1 Geral

Avaliar o estado nutricional relativo ao zinco de pacientes com artrite reumatoide e sua relação com o estresse oxidativo e o polimorfismo Arg213Gli no gene da EC-SOD.

4.2 Específicos

- Avaliar o estado nutricional geral dos pacientes por meio do IMC e bioimpedância elétrica;
- Avaliar o consumo alimentar de zinco e macronutrientes, e a adequação nutricional da dieta dos pacientes;
- Determinar o estado nutricional dos pacientes em relação ao zinco e marcadores de estresse oxidativo;
- Determinar a atividade das enzimas superóxido dismutase eritrocitária e glutationa peroxidase no sangue total dos pacientes;
- Determinar a frequência do polimorfismo Arg213Gli no gene que codifica para a enzima EC-SOD;
- Verificar se o polimorfismo Arg213Gli tem influência no estado nutricional dos pacientes em relação ao zinco e na atividade eritrocitária total da superóxido dismutase;
- Correlacionar os parâmetros analisados de acordo com o genótipo.

5. CASUÍSTICA

5.1 Aspectos Éticos

A pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo sob protocolo nº 567 em 29/03/11. Todas as participantes que aceitaram participar da pesquisa receberam e assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) após todos os esclarecimentos sobre o estudo.

5.2 Amostragem e seleção da amostra

O estudo é de natureza caso-controle o qual foi composto de um grupo de pacientes com AR (grupo caso) e um grupo de indivíduos saudáveis (grupo controle).

O cálculo amostral foi realizado pelo Instituto de Matemática e Estatística da Universidade de São Paulo. O tamanho amostral foi calculado a partir de dados de uma amostra piloto de 16 participantes com AR considerando as seguintes variáveis: zinco plasmático e eritrocitário, glutationa peroxidase no sangue total e superóxido dismutase eritrocitária, índice de massa corpórea, atividade da doença, idade e tempo de diagnóstico da doença. É importante ressaltar que este cálculo não levou em consideração a frequência do polimorfismo estudado, pois não existem dados na população brasileira. Foi realizada uma análise descritiva unidimensional para posterior análise inferencial com o objetivo de identificar um modelo de regressão linear múltipla e utilizar a estimativa do desvio padrão do erro no cálculo do tamanho amostral. Este cálculo foi realizado em função de dois tipos de erro: o erro de precisão (B) de 0,5%, e o erro tipo I (α), de 5%. Assim, a análise inferencial concluiu que é possível haver um modelo que relacione níveis de zinco com a atividade da AR com um tamanho amostral de 58 participantes. Para efeito de comparação, foram incluídos no estudo 56 indivíduos saudáveis, com características como sexo e recomendação nutricional de zinco equiparáveis aos pacientes com AR, que fizeram parte do grupo controle.

Para o grupo caso, foram selecionadas 59 mulheres diagnosticadas com AR que fazem acompanhamento clinico no setor de reumatologia do Hospital São

Paulo/UNIFESP. O grupo controle foi composto por 56 mulheres saudáveis recrutadas no campus da cidade universitária da USP.

Foram adotados os seguintes critérios de inclusão para o grupo caso: pacientes com idade entre 19 e 70 anos diagnosticadas com AR, segundo critérios estabelecidos pelo *American College of Rheumatology (ACR)*; que tinham uma estabilidade farmacológica (DMCDs) de pelo menos 3 meses; que não apresentavam doenças que poderiam interferir no estado nutricional relativo ao zinco como câncer, distúrbios da tireoide e doença renal; não ser tabagista e que não utilizassem suplemento vitamínico-mineral, exceto cálcio e vitamina D. Para o grupo controle, as mulheres não deveriam ter histórico clinico de AR, não fazer uso de suplemento vitamínico-mineral e não apresentar doenças associadas como diabetes mellitus, doença da tireoide, hepática ou renal.

5.3 Protocolo Experimental

Uma pré-seleção das pacientes foi feita por meio de consulta no prontuário eletrônico interno disponível no setor de reumatologia do Hospital São Paulo. No dia da consulta, a avaliação do grau da atividade da doença e as condutas necessárias foram feitas pelos médicos do ambulatório e, após confirmação dos critérios de inclusão para esta pesquisa, foi feito o convite para participação no estudo. O grupo controle foi recrutado por meio da divulgação da pesquisa através de cartazes fixados nos murais da universidade.

Após aceitar a participação no estudo foi entregue o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE). Neste mesmo dia foi entregue o frasco para coleta de urina 24 de horas com todas as orientações necessárias. Após esclarecimentos, foi agendado o dia para coleta do material biológico. Quando não era possível conversar com a paciente logo após a consulta, o contato e esclarecimentos eram feitos por telefone.

No dia da coleta do material biológico foi feita a antropometria por meio da aferição de peso e estatura, e realizada a bioimpedância elétrica. Neste mesmo momento, um recordatório alimentar de 24 horas já era preenchido e os outros dois eram feitos por telefone. O frasco com a coleta da urina de 24 horas também era entregue nesta data pela paciente ao pesquisador.

Os mesmos procedimentos foram adotados para o grupo controle.
A figura 5 ilustra as etapas, bem como as análises realizadas neste estudo.
41 Graziela Biude Silva

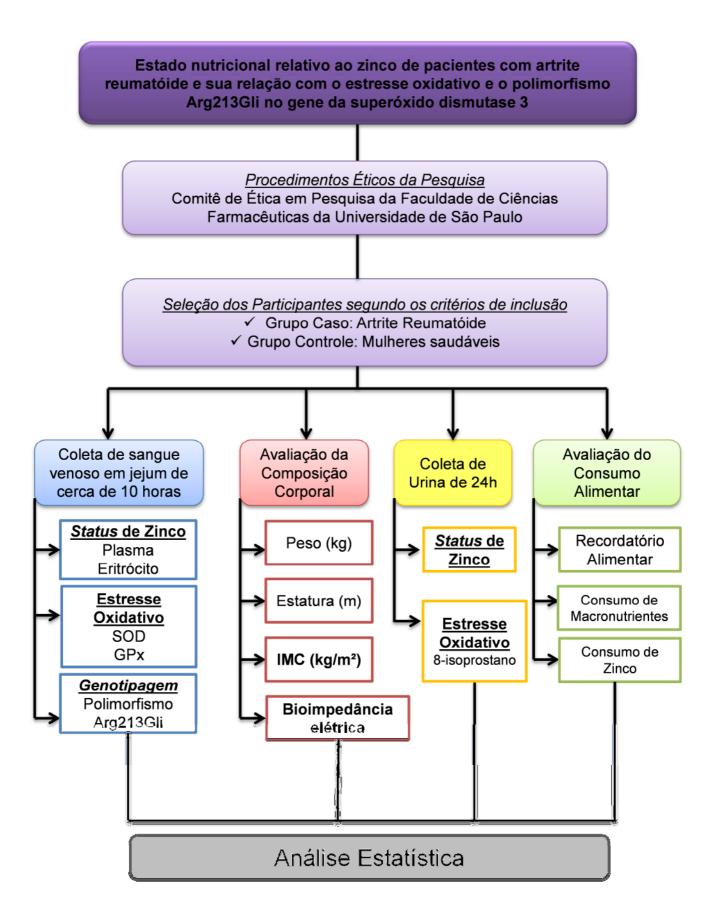


Figura 5. Fluxograma das atividades desenvolvidas na pesquisa.

6. MATERIAIS E MÉTODOS

6.1 Avaliação Antropométrica

6.1.1 Peso

Utilizou-se uma balança antropométrica com graduação de 100g, onde os participantes foram posicionados no centro da balança, descalços, usando a menor quantidade de roupa possível, em posição ereta e com os braços estendidos ao longo do corpo.

6.1.2 Estatura

Foi aferida utilizando um estadiômetro contido na própria balança, onde o participante deve ficar em pé com os pés juntos, descalços e braços estendidos ao longo do corpo, olhando para a linha do horizonte com a cabeça formando um ângulo de 90°.

6.1.3 Índice de Massa Corpórea (IMC)

Foi calculado dividindo-se o peso atual pela estatura ao quadrado, sendo que o peso foi dado em quilogramas e a altura em metros, e o resultado foi analisado de acordo com a classificação proposta pela Organização Mundial de Saúde (OMS, 2000).

6.1.4 Bioimpedância Elétrica

Os indivíduos ficaram deitados, em decúbito dorsal, com as pernas e os braços afastados do corpo. Após a limpeza da pele, foram colocados os dois eletrodos (um distal e outro proximal) no pé direito: o eletrodo distal na base de dedo médio e o eletrodo proximal um pouco acima da linha da articulação do tornozelo, entre os maléolos medial e lateral da tíbia; e na mão direita: o eletrodo distal na base do dedo médio e o eletrodo proximal um pouco acima da linha da articulação do punho, coincidindo com o processo estiloide.

6.2 Avaliação do Consumo Alimentar

Para avaliação do consumo alimentar foram aplicados três recordatórios alimentares de 24 horas, com a anotação de todos os alimentos consumidos em dois dias alternados durante a semana e um dia no final de semana. A análise dos alimentos consumidos pelos participantes da pesquisa foi feita por meio do *software* NutWin, do Departamento de Informática da Escola Paulista de Medicina/UNIFESP e a adequação das dietas será realizada por meio das *Dietary Reference Intakes* (2000), considerando os macronutrientes e o zinco.

A necessidade estimada de energia (EER) foi calculada a partir da fórmula (IOM, 2002):

EER (kcal) = $354,1 - (6,91 \text{ x idade [a]}) + \text{coeficiente de atividade física x (9,36 x peso [kg] +726 x estatura [m])$

6.3 Coleta de Material Biológico

6.3.1 Sangue

A coleta de sangue foi realizada em um ambiente adequado (UNIFESP) por um profissional de enfermagem. Amostras de 20mL foram colhidas no período da manhã, entre 7 e 9 horas, com as participantes em jejum de cerca de 10 horas. As amostras de sangue foram destinadas às análises de zinco, de marcadores de estresse oxidativo, do perfil lipídico e do polimorfismo Arg231Gli.

Após a coleta, o plasma foi separado do sangue total por centrifugação a 3000 rpm durante 15 minutos a 4°C e acondicionados em tubos de polipropileno e, armazenados a -80°C para posterior análise.

Em seguida, a massa eritrocitária obtida do sangue total foi lavada três vezes com 5mL de solução salina a 0,9%, homogeneizada lentamente por inversão e centrifugada a 10.000 rpm por 10 minutos a 4°C, sendo o sobrenadante descartado. Após a última centrifugação, a solução salina foi aspirada, e a massa de eritrócito foi cuidadosamente extraída com micropipeta e colocada em tubos de polipropileno, e armazenada a -80°C até o momento da análise.

6.3.2 Urina de 24 horas

A amostra de urina foi coletada em frasco previamente desmineralizado e entregue às participantes para que a coleta fosse realizada em domicilio. As participantes foram orientadas quanto à forma correta de coletar e armazenar a urina até o momento da entrega para o pesquisador. Ao receber as amostras de urina, o volume total do frasco foi medido e anotado. Para as análises de zinco foram separados três tubos de 15mL da amostra e em seguida o material foi armazenado a temperatura de -20°C. Em tubos de polipropileno foram feitas duas alíquotas de 2mL para a análise de creatinina e outras duas alíquotas de 1mL para a análise de 8-isoprostano, sendo posteriormente armazenados a temperatura de -80°C até o momento da análise.

6.3.3 Controle de Contaminação

Toda a vidraria, plásticos, ponteiras e tubos para análises de zinco foram desmineralizados em banho de ácido nítrico a 20%, por no mínimo 12 horas, e foram enxaguados 10 vezes consecutivas com água nanopura, minimizando assim a contaminação por minerais. Os materiais utilizados nas demais determinações foram adquiridos *DNase free* ou eram submetidos a um processo de esterilização em autoclave.

6.4 Análises Bioquímicas

6.4.1 Parâmetros bioquímicos para avaliação de zinco

6.4.1.1 Determinação de zinco no eritrócito

A determinação de zinco eritrocitário foi realizada por meio do método de espectrofotometria de absorção atômica com chama, proposta por Whitehouse *et al.* (1982). Uma alíquota de 400μL de massa eritrocitária foi diluída em água Milli-Q[®] na proporção de 1:3. Dessa diluição foram retirados 400μL que foram diluídos em 3,6mL de água Milli-Q[®]. Essa última diluição foi feita em triplicata e as amostras foram aspiradas na chama do aparelho. Para preparação da curva de calibração, foi utilizado HNO₃[®] (MERCK) diluído em água Milli-Q[®], nas concentrações 0,0; 0,01; 0,02; 0,05; 0,1; 0,2; 0,3 e 0,5 μg/mL. Os resultados foram expressos em μgZn/gHb e

para isso, foi determinada ainda a concentração de hemoglobina das amostras por espectrofotometria.

6.4.1.2 Determinação de zinco no plasma

A determinação da concentração de zinco plasmático foi realizada por meio do método de espectrofotometria de absorção atômica com chama, proposta por Rodriguez *et al.* (1989). Foram retiradas três alíquotas de cada amostra do plasma, as quais foram posteriormente diluídas em água Milli-Q[®] na proporção de 1:2 e aspiradas na chama do aparelho. Para preparação da curva de calibração, foi utilizado Glicerol[®] a 3% (MERCK) diluído em água Milli-Q[®], nas concentrações 0,0; 0,01; 0,02; 0,05; 0,1; 0,2; 0,3 e 0,5 μg/mL. Os resultados foram expressos em μg/dL.

6.4.1.3 Determinação de zinco na urina

A determinação da concentração de zinco na urina foi realizada por meio do método de espectrofotometria de absorção atômica com chama, proposta por Kiilerich *et al.* (1980). Depois de descongeladas, as amostras foram centrifugadas a 6000 rpm por 6 minutos para que para que todo sedimento presente no material fosse decantado, evitando possíveis interferentes na análise. Em seguida, as amostras forma diluídas em água Milli-Q[®] na proporção de 1:2 e o conteúdo foi aspirado diretamente na chama do aparelho, realizando-se três leituras por amostra. Para preparação da curva de calibração, foi utilizado Glicerol[®] (MERCK) diluído em água Milli-Q[®] nas concentrações 0,0; 0,01; 0,02; 0,05; 0,1; 0,2; 0,3 e 0,5 μg/mL. Os resultados foram expressos em μgZn/24hs.

6.4.2 Determinação da atividade enzimática

6.4.2.1 Superóxido dismutase

A atividade da superóxido dismutase foi determinada nos eritrócitos, pelo método *in vitro*, em um analisador bioquímico (Labmax 240), usando um kit disponível comercialmente (Ransod; Randox Laboratories, UK), conforme metodologia recomendada pelo fabricante. Este método emprega xantina oxidase para gerar radicais O₂ que reagem com 2-(4-iodofenil)-3-(4nitrofeno)-5-cloreto de feniltrazol (INT) para formar vermelho formazan. Por meio do grau de inibição dessa

reação é medida a atividade da superóxido dismutase. O eritrócito foi diluído 300 vezes em tampão fosfato 0,01 mol/l (pH 7,0), de forma que a % de inibição ficasse entre 30% e 60%. Para tanto, foram preparados além da amostra, o substrato misto, tampão, xantina oxidase e o padrão. Os resultados foram expressos em U/gHb.

6.4.2.2 Glutationa peroxidase

A atividade da enzima glutationa peroxidase foi determinada no sangue total. Essa análise foi realizada de acordo com a metodologia proposta por Paglia & Valentine (1967), em um analisador bioquímico (Labmax 240), usando um kit disponível comercialmente (Ransel; Randox Laboratories, UK). Esta técnica baseiase na oxidação da glutationa pelo peróxido de hidrogênio. Na presença da glutationa redutase e NADH, a glutationa oxidada é imediatamente convertida à forma reduzida com concomitante oxidação de NADH (reduzindo NADPH a NADH⁺). Também foi determinada a concentração de hemoglobina, uma vez que a atividade da enzima foi expressa em U/gHb.

6.4.3 Determinação da concentração de isoprostanos (8-iso PGF2α)urinário

As concentrações urinárias deste marcador foram determinadas por ELISA (Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay) com kit 8-isoprostane EIA® (Cayman ChemicalCo). Após a coleta do material, 1mL da amostra foi aliquiotado em um tubo de polipropileno e em seguida acrescentado 10µL de butil-hidroxi-tolueno (BHT) 0,005%. Até o momento da análise o material foi estocado a -80°C. A análise foi realizada de acordo com o protocolo de análise fornecido pelo fabricante. A leitura das placas foi realizada em um leitor de microplaca (modelo Synergy H1, Bioteck®) a um comprimento de onda de 412 nm. Os resultados foram expressos em ng/mmol de creatinina (PROUDFOOT et al., 1999).

6.4.4 Determinação da creatinina urinária

A creatinina urinária foi determinada por meio de kit comercial (Creatinina K, Ref, 96, Labtest) em um analisador bioquímico (Labmax 240). Após a coleta da urina, duas amostras de 1mL foram separadas em dois tubos de polipropileno e em

seguida armazenadas a -80°C para posterior análise. Antes da análise as amostras de urina foram centrifugadas a 6000 rpm por 6 minutos, para que todo sedimento presente no material fosse decantado no tubo de polipropileno a fim de evitar interferentes nos resultados. O método utilizado é baseado na reação da creatinina com o picrato alcalino (reação de Jaffé) o qual produz um cromógeno vermelho que pode ser medido fotometricamente.

6.4.5 Determinação da Capacidade Total de Ligação do Ferro, Transferrina, Saturação da Transferrina e Ferro Sérico

As análises de capacidade de ligação do ferro e ferro sérico foram feitas através de kits disponíveis comercialmente (IBC Liquiform Ref. 92 e Fe Liquiform Ref.91, Labtest) em um analisador bioquímico (Labmax 240). Para determinação da capacidade total de ligação do ferro, transferrina e saturação da transferrina foram feitos os seguintes cálculos:

Capacidade total de ligação do ferro (μ g/dL) = capacidade de ligação do ferro (μ g/dL) + Fe sérico (μ g/dL).

Transferrina (mg/dL) = capacidade total de ligação do ferro (µg/dL) x 0,7.

Saturação da Transferrina(%) = (Fe sérico (μ g/dL) ÷ capacidade total de ligação do ferro (μ g/dL)) x100.

6.4.6 Determinação da proteína C reativa (PCR), velocidade de hemossedimentação (VHS) e albumina sérica

A determinação destes parâmetros bioquímicos foi realizado pelo Laboratório Central do Hospital São Paulo da Escola Paulista de Medicina/UNIFESP e foi coletado do prontuário eletrônico do paciente.

6.4.7 Determinação da fração lipídica

As concentrações de colesterol total, HDL-colesterol, LDL-colesterol e triglicerídeos foram realizados em um analisador bioquímico (Labmax 240), utilizando kits disponíveis comercialmente (Labtest). A fração VLDL foi calculada

utilizando-se a equação de Friedwald et al. (1972), onde: LDL-c = CTc - (VLDLc + HDLc) e VLDLc = Triacilglicerol/5.

6.4.8 Determinação do risco cardiovascular

Para determinação do risco de doença cardiovascular, foram utilizados os índices de Castelli I e II. Os índices de Castelli I e II correspondem à razão entre o colesterol total e o HDL-colesterol e a razão entre LDL-colesterol e HDL-colesterol, respectivamente (CASTELLI, 1988).

6.4.9 Determinação do polimorfismo Arg213Gli no gene da SOD3

Primeiramente, foi realizada a extração de DNA utilizando um kit comercial (PureLink Genomic DNA – Invitrogen, Life Technologies). Após a extração, o DNA foi quantificados em um Nanodrop (ND-1000) e foram analisados os dados de concentração (ng/µL) e a razão 260/280. Considerou-se uma razão adequada aquelas cujos valores ficaram acima de 1,7. O DNA foi armazenado a -20°C.

A análise de genotipagem da população do estudo foi feita por PCR em Tempo Real com sondas *Taqman e primers* específicos para o SNP estudado. A concentração dos ensaios foi de 40x. Para o preparo do mix da reação, para cada amostra, foram utilizados 10μL de Master Mix 2x, 0,5μL de *Taqman Assay* 40x e 7,5μL de H₂O autoclavada. Em seguida a placa foi montada e inserida no aparelho de Real Time para leitura.

6.5 Análise Estatística

A análise estatística dos dados obtidos foi realizada no software SPSS versão 14.0. Inicialmente foram feitos testes de normalidade através do teste de Kolmogorov-Smirnov, e de homogeneidade de variância com o teste de Levene. Para a análise de comparação de médias dos parâmetros estudados entre grupo caso e controle utilizou-se o teste t de Student para as variáveis que eram normais e homogêneas e o teste não paramétrico de Mann-Whitney para amostras heterogêneas, ou seja, eram normais e não homogêneos, e para as amostras não normais e não homogêneas. Testes de correlações lineares de Pearson ou

Spearman foram feitos de acordo com a normalidade e homogeneidade de variância dos dados, considerando valores significativos abaixo de 5%.

Com o objetivo de identificar uma correlação entre o consumo alimentar de zinco e os parâmetros bioquímicos independentes da ingestão de energia, os dados de zinco da dieta foram ajustados pela energia e também pela variabilidade intrapessoal. Os macronutrientes, carboidrato, proteína e lipídeo também foram ajustados pela energia e variabilidade.

O ajuste energético foi feito pelo método residual (JAIME et.al., 2003). Para isto, testou-se a normalidade das variáveis pelo teste de Kolmogorov-Smirnov, e aplicou-se o teste de correlação de Pearson para verificar se havia correlação estatisticamente significativa entre a energia e os nutrientes ingeridos. Em seguida, realizou-se uma regressão linear simples entre a energia ingerida, como variável independente, e o valor absoluto de cada nutriente, como variável dependente. Com os coeficientes β0 e β1 obtidos pela regressão linear, determinaram-se os valores dos nutrientes estimados, residuais, constantes e ajustados.

A normalidade dos nutrientes ajustados pela energia foi testada utilizando o teste de Kolmogorov-Smirnov. A seguir, utilizou-se o teste de análise de variância (ANOVA) para obtenção das variáveis intra e interpessoal e da variância total da distribuição. Assim, a distribuição dos nutrientes foi ajustada e a variação intrapessoal removida.

Logo após os ajustes, a média do valor final dos nutrientes foi igual a sua forma bruta, porém o desvio padrão diminuiu. Foi aplicado também um teste de correlação linear de Pearson entre o consumo energético e os nutrientes ajustados e, observou-se uma redução na correlação do consumo energético e da variabilidade intrapessoal na ingestão destes últimos.

7. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para este estudo foram selecionadas 59 pacientes diagnosticadas com AR e 56 mulheres consideradas saudáveis. A média (DP) de idade das participantes do grupo com AR foi de 55,2 (10,8) anos e do grupo controle, 35,5 (9,9) anos.

Com relação às características das pacientes com AR, o tempo médio (DP) da doença e a idade média (DP) do diagnóstico entre as participantes foi de 18,3 (12,1) e 37,1(13,4) anos, respectivamente (Tabela 2).

Tabela 2. Características da doença das pacientes com AR. São Paulo, 2013.

Variável	Tempo da Doença (anos)	Idade do Diagnóstico (anos)	Rigidez Matinal (min)	DAS28
	n=58	n=58	n=57	n=47
Média	18,3	37,1	13,2	3,5
Mediana	16,0	39,0	0,0	3,2
DP¹	12,1	13,4	43,5	0,9
Vmin ²	1,0	10,0	0,0	2,3
Vmáx³	51,0	65,0	240,0	5,4

n= número de participantes; ¹ DP: desvio padrão; ²Vmin: valor minimo; ³ Vmáx: valor máximo **Legenda:** DAS28= Disease activity score 28.

Com relação a outros parâmetros de avaliação da doença, 74,1% das pacientes não possuem erosões nas articulações e 83,0% apresentam fator reumatoide positivo (Figura 6).

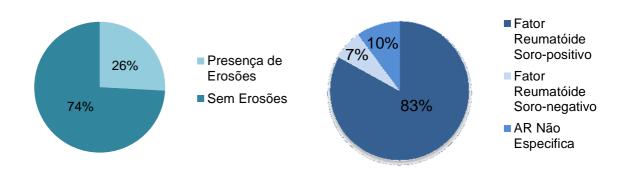


Figura 6. Distribuição percentual do fator reumatoide e presença de erosões nas pacientes com AR. São Paulo, 2013.

A avaliação de parâmetros bioquímicos também é importante para auxiliar na definição tanto do grau de atividade quanto da evolução da doença a cada consulta.

A PCR é um marcador de resposta rápida que reflete a extensão do processo inflamatório e é utilizado no estabelecimento do diagnóstico. Concentrações séricas elevadas da PCR no inicio da AR indicam uma doença erosiva progressiva e um pior prognóstico. Já o VHS, indica o aumento de proteínas de fase aguda, como o fibrinogênio, e reflete a atividade da doença no período de algumas semanas. Alguns fatores podem influenciar nas concentrações deste biomarcador como idade, sexo e anemia (NETO, CARVALHO, 2009). Além disso, os dados de PCR e VHS são importantes para o cálculo do DAS28. A albumina, um biomarcador inflamatório negativo durante a resposta de fase aguda, tem suas concentrações plasmáticas diminuídas em doenças inflamatórias devido a fatores como hemodiluição, aumento da permeabilidade vascular, aumento do consumo celular local e menor síntese, resultante da inibição por citocinas. Neste estudo, os dados referentes a estes parâmetros foram obtidos do prontuário eletrônico de cada paciente, entretanto estes nem sempre estavam disponíveis. A tabela 3 mostra os valores de PCR (mg/L), VHS (mg/dL) e albumina (g/dL).

Tabela 3. Concentrações séricas de proteína C reativa, velocidade de hemossedimentação e albumina das pacientes com AR. São Paulo, 2013.

Variável	PCR ^a (mg/L)	VHS ^b (mg/dL)	Albumina (g/dL)
	n=55	n=57	n=58
Média	8,1	23,5	4,2
Mediana	4,2	20,0	4,2
DP ¹	9,1	16,6	0,4
Vmin ²	0,1	1,0	2,2
Vmáx³	37,2	91,0	4,9

n= número de participantes; ¹ DP= desvio padrão; ² Vmin= valor minimo; ³ Vmáx= valor máximo; ª PCR= proteína C reativa; b VHS= velocidade de hemossedimentação.

PCR - valor de referência (adultos) = até 1,00 mg/L;

VHS - valor de referência (adultos) = até 20mm;

Albumina – valor de referência (adultos) = 3,5 a 5,2 g/dL.

Os dados do DAS28, parâmetro utilizado para avaliação do grau de atividade da doença, também foram obtidos do prontuário eletrônico com a data da consulta mais próxima à da coleta do material biológico. No entanto, nem sempre estes dados estavam disponíveis. Ao analisar os dados obtidos, observou-se que das 55 pacientes que tinham o dado em seu prontuário, 50,9% estavam em remissão da doença (Figura 7).

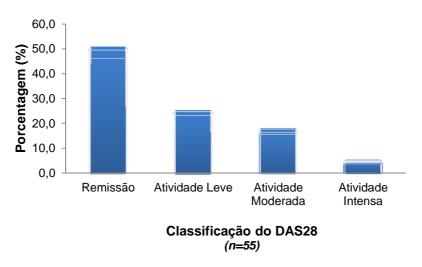


Figura 7. Distribuição percentual da classificação da atividade da doença de acordo com o DAS28 das pacientes com AR. São Paulo, 2013.

Como já descrito anteriormente, a terapia medicamentosa é o principal tratamento da AR. Na tabela 4 está representada a relação dos medicamentos utilizados pelas pacientes durante a pesquisa.

Com relação às DMCDs, faziam uso de drogas sintéticas e biológicas 77,6% e 24,1% das participantes, respectivamente. O fármaco mais utilizado entre as DMCDs, em geral, foi o MTX, relatado por 51,7% das pacientes. A associação entre DMCDs foi observada em 33,9% das participantes, sendo a combinação mais referida entre os fármacos MTX e leflunomida. Estavam em uso de corticoides 29,3% das pacientes. Além das drogas para o tratamento da doença, destaca-se o uso de suplementação de cálcio, que deve ser considerado principalmente mediante o uso de corticoides.

Tabela 4. Medicamentos utilizados pelas pacientes com AR. São Paulo, 2013.

Classe	Porcentagem (%)								
n= 59									
DMCD	91,4								
Ácido Fólico	51,7								
Prednisona	29,3								
Ciclobenzaprina	13,8								
Carbonato de Cálcio	55,2								
Colecalciferol	39,7								
Alendronato	27,6								
Vitamina D	29,3								
Antihipertensivo	41,4								
Antilipidemicos	36,2								
Antidepressivos	19,0								
Diurético	20,7								

n= numero de participantes; DMCD= droga modificadora do curso da doença.

Além da AR, as pacientes deste estudo apresentam outras comorbidades associadas à doença, o que pode levar à incapacidade funcional e também contribuir para uma maior mortalidade. Nesta pesquisa, 60,3% das participantes são hipertensas e, 36,2% e 32,8% apresentaram diagnóstico de osteoporose e fibromialgia, respectivamente (Figura 8).

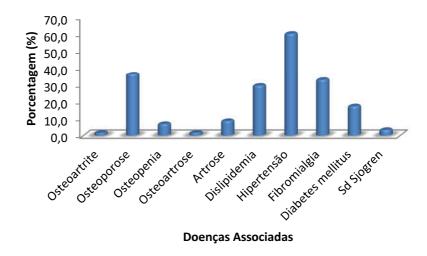


Figura 8. Distribuição percentual de doenças associadas das pacientes com AR. São Paulo, 2013.

A prevalência de hipertensão arterial sistêmica (HAS) e angina em pacientes com AR aumentam o risco de uma doença vascular subclínica, que é caracterizada pela prevalência de doença arterial periférica e anormalidades eletrográficas. A inflamação é considerada um fator de risco cardiovascular independente no caso desta doença. Os elevados níveis de citocinas e quimiocinas pró-inflamatórias ao estimular a expressão especifica de receptores de membrana que lesam as células endoteliais contribui com a formação da placa aterosclerótica e acelera o processo de aterosclerose (DORIA et al., 2005; LIBBY et al., 2002; POZZI, 2012).

A avaliação nutricional tem por objetivo estabelecer situações de risco ou de distúrbios nutricionais já estabelecidos para que possa ser feito uma estimativa das necessidades nutricionais do individuo e/ou a via de terapia nutricional mais adequada (SARNI, 2011).

O método utilizado para avaliação nutricional das participantes deste estudo foi o IMC e a bioimpedância elétrica. O IMC é considerado um índice importante na AR pois além de ser um fator de influência para doenças cardiovasculares, também está relacionado com o estado funcional , dor e incapacidade de trabalho do paciente em virtude da doença. A bioimpedância elétrica, considerada um método confiável, prático, objetivo e já validado em vários estudos, foi utilizada para estimar a porcentagem de gordura corporal e de massa magra das participantes do estudo. (STAVROPOULOS-KALINOGLU et al.,2007;WOLFE; MICHAUD, 2012)

De acordo com o IMC, entre as pacientes com AR, 9,1% estavam eutróficas, 58,2% com sobrepeso, 30,9% com obesidade e 3,6% com baixo peso. Com relação ao grupo controle, 73,2% estavam eutróficas, 21,4% com sobrepeso, 1,8% com obesidade e 3,6% com baixo peso. A tabela 5 mostra os valores de peso (kg), estatura (m), IMC (kg/(m)²), porcentagem de gordura (%) e massa magra (kg) das participantes do estudo.

Os valores médios de peso, estatura, IMC e porcentagem de gordura corporal foram significativamente maiores nos pacientes com AR do que no grupo controle (Tabela 5).

Tabela 5. Avaliação nutricional e da composição corporal dos pacientes com AR e do grupo controle. São Paulo, 2013.

		Peso (kg)	Estatura (m)	IMC (kg/(m)²)	GC (%)	MM (%)
Caso		n=55	n=55	n=55	n=55	n=55
	Média	65,2	1,6	26,7	35,2	41,9
	Mediana	64,1	1,6	25,7	35,3	41,3
	DP ¹	10,8	0,1	4,2	6,0	7,3
	Vmin ²	46,0	1,4	19,1	21,7	22,2
Vmax ³		97,0	1,7	39,9	48,0	57,5
Controle		n=56	n=56	n=56	n=56	n=56
	Média	60,6	1,6	23,4	32,0	41,2
	Mediana	60,6	1,6	23,7	32,3	40,8
	DP1	8,1	0,1	2,9	5,8	4,9
	Vmin ²	44,9	1,5	18,5	17,2	31,0
	Vmax³	83,9	1,8	34,3	48,5	52,9
	р	<0,001 [§]	<0,001	<0,001 [§]	0,017	0,383 [§]

n= número de participantes; ¹DP= desvio padrão; ²V min= valor minimo; ³V máx= valor máximo; IMC= Índice de Massa Corpórea; CG= gordura corporal; MM= massa magra.

Para classificação do IMC das pacientes com AR utilizou-se o ponto de corte para sobrepeso e obesidade estabelecido por STAVROPOULOS-KALINOGLOU, et al. (2007). Este estudo estabeleceu uma nova classificação baseada em uma condição frequentemente observada entre os pacientes com AR, denominada caquexia reumatóide. Esta condição é caracterizada pela perda involuntária de massa magra e um aumento da gordura corporal acompanhada de pouca ou nenhuma perda de peso (STAVROPOULOS-KALINOGLOU, et al.,2007).

Os mecanismos exatos pelos quais a caquexia reumatóide acontece ainda não são totalmente esclarecidos, mas sabe-se que alguns fatores como a produção exacerbada de citocinas inflamatórias, a redução da ação da insulina periférica e a diminuição da atividade fisica podem contribuir para este quadro. Uma das carcteristicas da caquexia reumatóide é o elevado gasto energético de repouso, que

[§] Teste de Mann-Whitney considerando valor significativo p<0,05.

[†] Teste T-Student para amostras independentes considerando valor significativo p<0,05.

^{*}Classificação de acordo com Stavropoulos-Kalinoglou,et al. (2007).

^{**}Classificação de acordo com WHO (2000).

pode ser causado pelo desbalanço entre a sintese e degradação de proteinas por causa da inflamação. A redução da ação da insulina ainda não tem sua causa bem esclarecida, mas sugere-se que o TNF-α, produzido tanto pelo musculo esquelético como por adipócitos, possa interferir na via de sinalização deste hormônio. Deste modo, o TNF-α promove a caquexia indiretamente atuando como mediador da resistência à insulina na AR. A redução dos pontos de corte do IMC e a reclassificação de sobrepeso e obesidade em pacientes com AR baseada nestas possiveis alterações metabólicas, podem ser importantes na investigação de fatores de risco para doenças cardiovasculares e levar a uma diminuição do numero de casos de mortalidade entre estes individuos. (STAVROPOULOS-KALINOGLOU, et al.,2007; WALSMITH; ROUBENOFF, 2002).

Na presente pesquisa não houve diferença significativa entre a massa magra das pacientes com AR e do grupo controle (p=0,383) e também não foi observado nenhum caso de caquexia reumatóide.

A obesidade pode ser considerada um fator de risco para a AR, entretanto os dados publicados ainda não são consistentes e os mecanismos exatos que explicam este fato ainda são desconhecidos. Algumas hipóteses já descritas na literatura sugerem que o aumento do tecido adiposo leva a uma produção de adipocitocinas e citocinas inflamatorias que possuem propriedades imunomoduladoras que podem causar impacto na inflamação. Outras evidências indicam uma relação entre a obesidade e a deficiência de vitamina D, frequentemente observada nestes individuos (CROWSON et al., 2013).

Neste estudo observamos que 30,9% das pacientes com AR estão obesas. Alguns trabalhos na literatura têm mostrado que a obesidade na AR desempenha um papel protetor contra lesões articulares e radiográficas. VAN DER HELM-VAN MIL et. al. (2007) relata a influência do papel antiinflamatório da adiponectina, que consiste na capacidade de reduzir os níveis de IFN-γ e TNF-α e aumentar os niveis de IL-10, neste processo de proteção articular. Os sinoviócitos, ao expressar adiponectina, elevam os níves desta adipocitocina no liquido sinovial. Estas concentrações foram negativamente associadas à contagem local de leucócitos, sugerindo que a adiponectina possa neutralizar este processo inflamatório local.

A questão que tem sido alvo de várias pesquisas atualmente, é saber se a obesidade está presente antes da manifestação da doença ou se ela se desenvolve após o estabelecimento dos mecanismos inflamatórios (CROWSON, et. al. 2013).

Para avaliação do risco cardiovascular das participantes dos grupos caso e controle, utilizou-se os Índices de Castelli I e II. Estes indices são calculados a partir de dados do perfil lipidico, sendo o primeiro calculado a partir da razão entre a concentração de colesterol total e HDL-c e o segundo, pela razão da concentração entre LDL-c e HDL-c. A tabela 6 refere-se às concentrações séricas de colesterol total e frações e os valores médios dos índices de Castelli I e II.

Tabela 6. Valores médios (DP) das concentrações séricas de colesterol total e frações e dos índices de Castelli I e Castelli II. São Paulo, 2013.

	Média (DP)		Mediana		Vmin		Vmáx		
Variável	Caso	Controle	Caso	Controle	Caso	Controle	Caso	Controle	P
	n=59	n=56	n=59	n=56	n=59	n=56	n=59	n=56	
Colesterol total (mg/dL)	198,6 (36,9)	179,2 (32,6)	191,0	179,0	132,0	105,0	331,0	272,0	0,004+
LDL-c (mg/dL)	110,0 (24,3)	102,2 (24,3)	106,0	102,0	105,0	272,0	272,0	154,0	0,145†
HDL-c (mg/dL)	59,6 (10,8)	56,1 (7,7)	59,0	52,0	24,0	29,0	111,0	145,0	0,302†
VLDL-c (mg/dL)	55,2 (10,8)	18,4 (7,7)	58,0	17,2	24,0	5,2	70,0	41,6	<0,001†
TG (mg/dL)	140 (56,0)	92,2 (38,4)	120,0	86,0	56,0	26,0	398,0	208,0	<0,001§
Castelli I	3,6 (1,3)	3,4 (1,0)	3,2	3,2	1,7	1,6	8,3	7,8	0,574§
Castelli II	2,0 (1,0)	2,0 (0,8)	1,8	1,8	0,6	0,6	5,3	4,5	0,655†

n= número de partipantes; DP= desvio padrão; TG: triglicerídeos

Valores de Referência:

Colesterol total (\leq 170 mg/dL); Colesterol LDL (\leq 110 mg/dL); Colesterol HDL (\geq 35mg/dL); Triglicerídeos (\leq 130mg/dL). (IV Diretrizes Brasileiras sobre Dislipidemias).

Índice de Castelli I = <4,3 mg/dL; Índice de Castelli II = <2,9 mg/dL. (CASTELLI, ABBOT, MCNAMARA, 1983).

Geralmente, alterações no perfil lipidico são associadas a uma maior prevalência de doenças cardiovasculares tanto na AR como em individuos saudáveis. Estudos sugerem que o perfil lipidico desfavorável na AR esteja associado à inflamação, tornando-o pró-aterogenico e um fator de risco independente para doenças cardiovasculares. Os valores de colesterol total, VLDL-c

[§] Teste de Mann-Whitney considerando valor significativo p<0,05.

[†] Teste T-Student para amostras independentes considerando valor significativo p<0,05.

e triglicerídeos nas pacientes com AR desta pesquisa foram significativamente maiores quando comparado com o grupo controle (Tabela 6). É importante ressaltar neste caso que a inatividade fisica, relatada por 59% das pacientes, também contribui para o aumento destas variáveis. No caso do HDL-c, é comum que pacientes com AR apresentem baixas concentrações desta lipoproteina, ao contrário do observado neste estudo. As altas concentrações de HDL-c podem ser atribuidas ao uso de DMCDs, corticoesteroides e cloroquina. GARCIA-GOMEZ et al. (2009) avaliaram o perfil lipidico em 122 mulheres diagnosticadas com AR na pré e pós menopausa e encontraram concentrações maiores de HDL-c nestes dois grupos quando comparado a um grupo controle (p=0,023 e p≤0,001, respectivamente). O aumento destas concentrações foram atribuidas ao uso de drogas antirreumáticas e baixas doses de glicocorticoides.

Apesar das alterações observadas no perfil lipidico destas pacientes, os dois grupos avaliados apresentaram baixo risco para doença cardiovascular segundo os índices de Castelli I e II, não havendo diferença significativa entre os grupos.

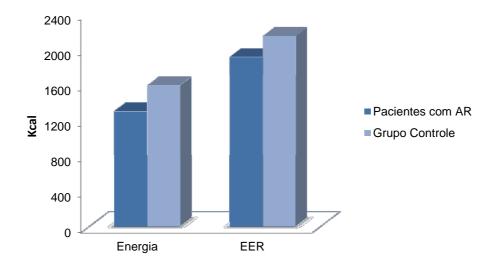
O IMC é uma medida antropométrica que avalia o individuo considerando apenas seu peso e estatura sem considerar as medidas de massa magra e massa gorda, que são componentes do peso corporal total e que podem ter grande variabilidade entre os individuos como no caso de pacientes com esta doença (STAVROPOULOS-KALINOGLOU, et al., 2011). Por esta razão, alguns autores discutem que talvez o IMC, não seja um bom preditor de gordura corporal e de risco cardiovascular para pacientes com AR. Ao avaliar os pacientes deste estudo a partir de um novo ponto de corte estabelecido para o IMC e do risco cardiovascular, através dos índices de Castelli, foi observada uma correlação positiva entre estas variáveis: IMC e Castelli I (r=0,301; p=0,024) e IMC e Castelli II (r=0,399; p=0,002).

A avaliação do risco cardiovascular em pacientes com AR é de grande importância visto que a taxa de mortalidade por doenças relacionadas a este evento é alta. Além do IMC e do perfil lipidico, outros parâmetros devem ser utilizados para estabelecer este risco.

Além de medidas antropométricas e indicadores bioquímicos, o estado nutricional de um individuo também é avaliado por meio do resultado da ingestão de alimentos e das necessidades energéticas (FISBERG; MARCHIONI; COLUCCI, 2009). A análise do consumo alimentar para avaliação de macronutrientes e zinco

neste estudo foi feita por meio do método de recordatório de 24 horas. Foi possível a análise de 51 pacientes do grupo caso e 41 indivíduos do grupo controle.

A média (DP) da ingestão energética das pacientes com AR e o do grupo controle foi de 1372,7 (455,2) e 1591,7 (382,4) kcal/dia, respectivamente (Tabela 7). Após realizar o cálculo da necessidade energética estimada (EER) e comparar estes valores com os obtidos dos recordatórios alimentares, observou-se que tanto as pacientes do grupo caso como as participantes do grupo controle ingeriram calorias abaixo das necessidades recomendadas (Figura 9).



Legenda: EER= necessidade energética estimada.

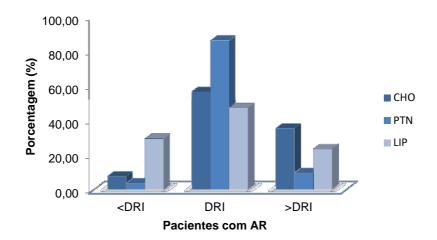
Figura 9. Valores médios de energia total e da necessidade média estimada de pacientes com AR e do grupo controle. São Paulo, 2013.

Apesar do alto índice de sobrepeso e obesidade entre as pacientes com AR, observou-se, no entanto, uma baixa ingestão de calorias. Este fato pode ser atribuído a falhas inerentes ao método utilizado para avaliação do consumo alimentar. O recordatório alimentar de 24 horas é um método de rápida aplicação e que avalia a dieta atual, estimando valores absolutos ou relativos da ingestão de energia e nutrientes, amplamente distribuídos no total de alimentos oferecidos ao individuo. Para que os dados coletados sejam os mais fidedignos possíveis, o entrevistador depende da memória do entrevistado tanto para identificação como para a quantificação do tamanho das porções dos alimentos, bem como da

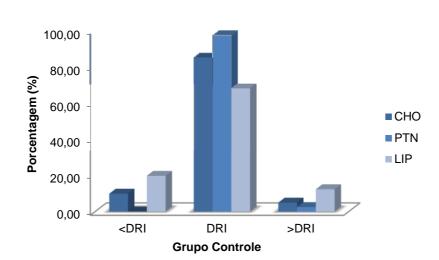
cooperação do entrevistado e da capacidade do entrevistador em estabelecer um canal de comunicação em que se obtenha a informação por meio de diálogo (FISBERG, MARTINI, SLATER, 2005). A memória, entretanto, é um fator importante a ser considerado durante a entrevista pois pode gerar distorções consideráveis tanto de forma consciente como inconsciente. No momento do relato, a memória seletiva, por exemplo, pode levar o individuo a lembrar-se dos alimentos mais aceitos socialmente ou então a referir alimentos cujo consumo seja desejável e assim subrelatar quantidades e outros possíveis alimentos ingeridos. A avaliação do consumo alimentar em obesos, por exemplo, tende a ser subestimada devido ao fato do individuo sentir-se observado, produzindo mudanças em seu relato tanto para demonstrar uma dieta idealizada ou para impressionar o entrevistador. A presença de um observador pode provocar diferentes atitudes por parte do entrevistado que podem depender de normas culturais locais, da expectativa do entrevistado em relação àquela avaliação ou ainda da interação entre o observador e o entrevistador (GARCIA, 2004).

Com relação à ingestão de macronutrientes, os percentuais de ingestão de carboidratos, proteínas e lipídeos estavam adequados de acordo com os valores de referência preconizada pelas DRIs (2005) (Figura 10), embora a ingestão energética esteja abaixo das necessidades recomendadas. Um estudo descritivo realizado no México com homens e mulheres diagnosticados com AR também mostrou que a porcentagem de macronutrientes estava adequada segundo as recomendações (PUENTES-TORRES et al., 2009).

A)







Legenda: CHO= carboidrato; PTN= proteína; LIP= lipídeos; DRI= dietary reference intake.

Valor de Referência (DRIs, 2005): Carboidratos: 45 a 65% do VET; Proteína: 10 a 30% do VET; Lipídeos: 25 a 35% VET.

Figura 10. A) Distribuição percentual de macronutrientes em relação ao valor calórico total segundo DRIs dos pacientes com AR. B) Distribuição percentual de macronutrientes em relação ao valor calórico total segundo DRIs do grupo controle. São Paulo, 2013.

O consumo médio de energia e macronutrientes foi significativamente menor para as pacientes com AR comparadas com o grupo controle (Tabela 7).

Tabela 7. Valores médios (DP) da ingestão de energia, carboidrato, proteína e lipídeo de pacientes com AR e do grupo controle. São Paulo, 2013.

	Méd	Mediana		Vmín		Vmáx			
Nutriente	Caso (n=51)	Controle (n=41)	Caso	Controle	Caso	Controle	Caso	Controle	p
	Caso (11=31)		(n=51)	(n=41)	(n=51)	(n=41)	(n=51)	(n=41)	
Energia (kcal)	1372,7 (455,2)	1591,7 (382,4)	1315,0	1612,0	710,4	832,6	2979,3	2293,6	0,016+
Carboidrato (g/dia)	210,6 (9,0)	218,7 (14,4)	210,0	218,6	182,5	187,7	238,8	265,3	0,001§
Proteína (g/dia)	66,6 (10,4)	74,6 (18,1)	66,4	75,4	48,2	41,2	92,0	135,1	0,016§
Lipideos (g/dia)	44,5 (5,0)	52,0 (4,7)	44,5	52,5	32,5	41,4	56,6	64	<0,001+

n= número de participantes; DP= desvio padrão; Vmín= valor minimo; Vmáx= valor máximo.

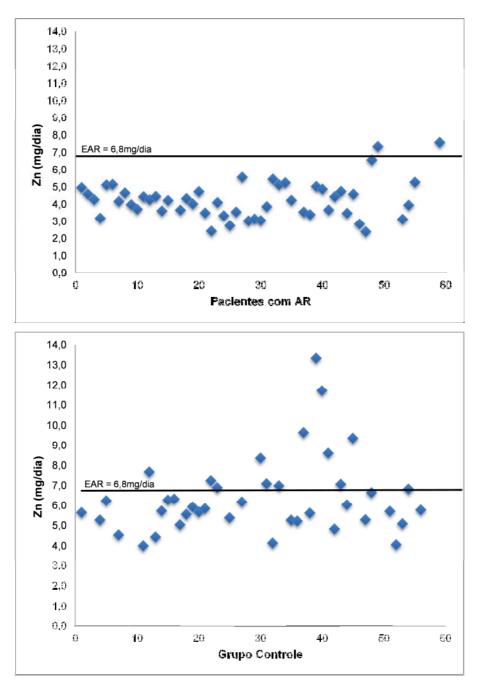
A diminuição da ingestão de calorias no caso das pacientes com AR também pode estar associada aos sintomas relacionados à doença como perda da função motora, fadiga e dor, que por sua vez, podem interferir na compra, na preparação e no consumo de alimentos. Além disso, as reações adversas como náuseas, dispepsia e alteração no paladar, causadas pela terapia medicamentosa, também podem influenciar na diminuição da ingestão de calorias e, consequentemente, de vitaminas e minerais (DARLINGTON; RAMSEY, 1993).

Os valores de ingestão de zinco foram ajustados pela energia, pois as duas variáveis apresentaram correlação positiva. A média (DP) da ingestão de zinco foi de 4,3 (1,1) mg/dia para os pacientes com AR e 6,4 (1,9) mg/dia para o grupo controle (p<0,001). Os estudos que avaliaram a ingestão dietética de zinco em pacientes com AR são escassos na literatura. A recomendação de ingestão para este micronutriente segundo a EAR (*Estimated Average Requirement*) é de 6,8mg/dia (IOM, 2001) e os dois grupos avaliados apresentaram uma ingestão média abaixo do recomendado (Figura 11).

A prevalência de inadequação de ingestão de zinco foi feita através do método do ponto de corte pela EAR utilizando os dados ajustados pela energia e variabilidade intrapessoal. Os valores percentuais de prevalência de inadequação das pacientes com AR e do grupo controle foram de 98,9% e 58,0%, respectivamente.

[§] Teste de Mann-Whitney considerando valor significativo p<0,05.

[†] Teste T-Student para amostras independentes considerando valor significativo p<0,05.



Legenda: Zn= zinco; EAR= necessidade média estimada; AR= artrite reumatoide. EAR=6,8mg/dia (IOM, 2001).

Figura 11. Ingestão média de zinco (mg/dia) das pacientes com AR e do grupo controle. São Paulo, 2013.

Entre as principais fontes alimentares de zinco estão as carnes, que também contribuem para ingestão de proteínas na dieta. Em termos de biodisponibilidade do zinco, a presença de proteínas de origem animal na dieta favorece a absorção do

mineral (YUYAMA et al., 2012). Neste estudo, apesar da ingestão de proteínas estar adequada à recomendação estabelecida pelas DRIs, não houve correlação entre os dois nutrientes.

A avaliação do estado nutricional de indivíduos relativo ao zinco é composta não só pela avaliação do consumo alimentar, mas também por meio de biomarcadores sanguíneos. A utilização de mais de um parâmetro para avaliação da deficiência ou da adequação deste mineral se deve ao fato de que ainda não há um marcador biológico específico, sensível e prático que evidencie o estado nutricional relativo ao zinco. Atualmente os parâmetros mais utilizados, além do consumo alimentar, são as concentrações de zinco no plasma, eritrócito e urina, e a atividade de metaloenzimas (MARREIRO, 2013).

A tabela 8 mostra os valores médios (DP) das concentrações de zinco no plasma, eritrócito e urina das pacientes com AR e do grupo controle.

Tabela 8. Concentrações médias (DP) de zinco no plasma, eritrócito e urina das pacientes com AR e do grupo controle. São Paulo, 2013.

Variáveis	n		Médi	Média (DP)		Mediana		Vmín		Vmáx	
variaveis		Controle	Caso	Controle	Caso	Controle	Caso	Controle	Caso	Controle	р
Zinco plasmático (µg/dL)	59	56	53,4 (9,8)	58,2 (10,1)	51,8	55,8	37,2	42,4	87,4	87,5	0,011+
Zinco eritrocitário (µg/gHb)	59	56	48,3 (12,1)	44,7 (8,4)	46,6	44,6	26,1	24,7	81,7	74,8	0,219§
Zinco urinário (µgZn/24h)	54	49	227,7 (166,8)	216,4 (111,2)	169,3	198,9	32,5	31,5	833,2	706,6	0,643§

n= número de participantes; DP= desvio padrão; Vmín= valor minimo; Vmáx= valor máximo.

Valor de referência (GIBSON, 1990):

Zn plasmático - 70 - 110µg/dL;

Zn eritrocitário - 40-44µg/gHb

Zn urinário= 300 a 600µgZn/24hrs

De acordo com os testes de diferença de médias, houve diferença estatisticamente significativa apenas para as concentrações plasmáticas de zinco entre as pacientes com AR e o grupo controle (Tabela 8). Também não foi encontrada diferença significativa entre estas variáveis quando as pacientes com AR foram separadas pelo grau de atividade da doença. A concentração de zinco no plasma é o biomarcador indicado pela OMS/UNICEF/IAE/IZiNCG e o mais utilizado para avaliação do estado nutricional de populações. Esta recomendação foi baseada

[§] Teste de Mann-Whitney considerando valor significativo p<0,05.

[†] Teste T-Student para amostras independentes considerando valor significativo p<0,05.

após evidências de que este marcador responde à alterações na ingestão alimentar de zinco e prediz respostas funcionais à intervenções (GIBSON, 2008). No caso deste estudo, não houve correlação entre o zinco plasmático e o zinco dietético, no entanto os valores médios para os dois parâmetros encontram-se abaixo da faixa de normalidade para os dois grupos.

As baixas concentrações de zinco no plasma podem ser atribuídas ao fato de que as citocinas inflamatórias envolvidas na patogênese da AR inibem a síntese de albumina no fígado, diminuindo a capacidade de ligação do mineral e sua distribuição para outros tecidos (TAPIERO, TEW, 2003). A albumina é a principal proteína carreadora de zinco (90%) no plasma. Nesta pesquisa, a albumina das pacientes com AR foi positivamente correlacionada com as concentrações de zinco no plasma (r=0,285; p=0,030) e apenas 5 pacientes apresentaram baixas concentrações das duas variáveis.

Estudos realizados com animais mostraram que durante o processo inflamatório há uma redistribuição do zinco para o fígado. Este mecanismo parece estar relacionado com um *pool* elevado do mineral ligado à metalotioneina, proteína que atua na regulação metabólica de metais. Na obesidade, por exemplo, a produção de citocinas inflamatórias estimula a síntese de proteínas transportadoras de zinco, comprometendo a biodisponibilidade deste elemento para as necessidades do organismo destes indivíduos (BURY et.al., 2008; OLIVEIRA, KOURY, DONANGELO, 2007).

Os resultados encontrados neste estudo com relação a este biomarcador estão de acordo com os dados de outros autores (BALOGH et a., 1980; HONKANEN et a., 1991; TUNCER et. al., 1999). A maioria dos estudos que avaliaram o estado nutricional de pacientes com AR com relação ao zinco, utilizou como principal biomarcador as concentrações do mineral no plasma ou soro. ZOLI et al. (1998) avaliou as concentrações séricas de zinco, TNF-α e IL-1β em 57 mulheres diagnosticadas com AR, 20 com artropatia psoriaca, 20 com osteoartrite e 20 saudáveis. As pacientes com AR apresentaram concentrações significativamente menores do mineral quando comparado aos grupos com artropatia psoriaca, osteoartrite e controle. Os níveis de TNF-α e IL-1β também foram significativamente maiores nos pacientes com AR do que nos outros grupos avaliados. Este estudo

também observou uma correlação negativa entre os níveis séricos e zinco e de TNF- α e IL-1 β .

O tratamento farmacológico utilizado na AR também pode interferir nas concentrações de zinco. ÖNAL et al. (2010) observou níveis séricos de zinco significativamente reduzidos em 32 pacientes com AR quando comparados ao grupo controle. Entre as medicações utilizadas pelos pacientes, o uso do MTX elevou os níveis séricos de zinco, porém, ainda assim estes pacientes estavam deficientes. O tratamento com corticosteroides, AINHs e cloroquina não alteraram as concentrações séricas do mineral. Neste estudo, não foi possível avaliar a influência das DMCDs isoladamente sobre as concentrações de zinco visto que a maioria faz o uso de mais de um fármaco para o tratamento da AR.

Grande parte destes estudos utiliza apenas um parâmetro de avaliação para determinar o estado nutricional destes pacientes com relação ao zinco. Considerando o fato de que estes pacientes apresentam uma maior complicação a nível metabólico, comorbidades associadas e o uso de mais de um fármaco para o tratamento da doença, a avaliação de apenas um parâmetro pode não ser suficiente para relatar se estes pacientes estão ou não deficientes em zinco. Por isso, o presente trabalho buscou associar mais de um parâmetro para esta avaliação, visando a obtenção de um resultado mais fidedigno. Ressalta-se ainda que não existem trabalhos realizados com a população brasileira que relacionem pacientes com AR e seu estado nutricional com relação a este mineral.

A avalição do zinco eritrocitário é uma medida pouco utilizada em estudos científicos devido às dificuldades em termos de análise e problemas com a amostra. No entanto, pode ser considerado um biomarcador que reflete alterações a longo prazo visto que a meia vida dos eritrócitos é longa (120 dias) (YUYAMA, 2012). Neste estudo foram observadas concentrações elevadas deste mineral nas pacientes com AR quando comparado ao grupo controle, entretanto esta diferença não foi significativa (p=0,219). Na literatura, os estudos que avaliaram este biomarcador são escassos e controversos.

MIERZEK, STRECKER, RADOMSKA (2011) encontraram baixas concentrações eritrocitárias de zinco em pacientes com AR quando comparado ao grupo controle, porém, esta diferença não foi significativa. Ao contrário de TUNCER et al. (1999), que encontraram concentrações significativamente elevadas (p<0,001)

de zinco no eritrócito em pacientes com AR. Este fato pode ser explicado por um mecanismo na resposta de fase aguda que ocorre secundariamente e consiste no sequestro do mineral pela metalotioneina no fígado e talvez em outros tecidos. Em estudos com animais, foi observada uma associação entre a indução de metalotioneina pela IL-6, em cultura de hepatócitos, e o aumento dos níveis de zinco celular (KUSHNER, 1993).

Diante de uma distribuição anormal de zinco no organismo e o aumento das concentrações deste mineral no eritrócito, é possível que possa ocorrer uma deficiência de ferro. O zinco pode ser incorporado enzimaticamente pela ferroquelatase na protoporfirina ao invés do ferro no estágio final da síntese do heme, formando assim a zinco-protoporfirina (ZPP), e desta forma este elemento ficaria indisponível para sua ação no organismo. Estudos têm mostrado que este composto é um bom parâmetro para o diagnóstico de anemia, por ser considerado um método bastante estável, específico e sensível. Além disso, com este biomarcador é possível identificar uma deficiência de ferro antes do desenvolvimento do quadro de anemia (MAFRA; COZZOLINO, 2000; PAIVA, RONDÓ; GUERRA-SHIONOHARA, 2000).

Apesar de alguns trabalhos terem encontrado resultados de zinco eritrocitário semelhantes ao descrito neste trabalho, nenhum destes relatou este possível mecanismo. MAFRA, CUPPARI, COZZOLINO (2002) encontraram concentrações elevadas de zinco eritrocitário (50 (7,2) µg/gHb) em pacientes com insuficiência renal crônica sem diálise. Ao avaliar os resultados hematológicos, os pacientes apresentaram baixas concentrações de ferritina e saturação da transferrina, enquanto que as concentrações de ferro sérico estavam normais e a ZPP elevada. Dos 29 pacientes avaliados, 34,5% estavam deficientes em ferro. Assim, no caso destes individuos, a suplementação de ferro seria necessária para corrigir tanto a deficiência deste mineral e quanto a distribuição anormal de zinco.

Neste estudo, observamos concentrações elevadas de zinco no eritrócito de 32 pacientes com AR. Para investigar uma possível deficiência de ferro nestas participantes, foram avaliados os seguintes parâmetros: hemoglobina, hematócrito, capacidade total de ligação do ferro, transferrina, saturação da transferrina e ferro sérico (Tabela 9). Os dados de hemoglobina e hematócrito foram obtidos dos

exames clínicos disponíveis no prontuário eletrônico do hospital. Os outros parâmetros foram analisados através de kits comerciais disponíveis.

Tabela 9. Valores de hemoglobina, hematócrito, capacidade de ligação do ferro, transferrina, saturação da transferrina e ferro sérico das pacientes com AR.

São Paulo, 2013.

Variável	Média (DP)	Vmin	Vmáx
variavei	(n=32)	(n=32)	(n=32)
Hemoglobina (g/dL)	12,7 (1,1)	9,7	15,1
Hematócrito (%)	40,2 (3,1)	30,9	47,9
Capacidade Total de Ligação do Ferro (μg/dL)	283,6 (68,4)	141,0	418,3
Transferrina (mg/dL)	199,7 (46,0)	98,0	314,3
Saturação da Transferrina (%)	29,6 (11,2)	11,2	52,6
Ferro sérico (µg/dL)	83,8 (36,0)	36,0	160,0

n= número de participantes; DP= desvio padrão; Vmín= valor minimo; Vmáx= valor máximo.

Valores de Referencia para Adultos (Kit Labtest):

Capacidade de Ligação do Ferro= 250 a 440μg/dL; Transferrina= 200 a 300mg/dL; Saturação da Transferrina= 20 a 50%; Ferro sérico= 50 a 170μg/dL.

Hemoglobina= 12,0 a 15,5g/dL; Hematócrito= 35,0 a 45,0% (Hospital São Paulo/UNIFESP)

Os valores médios de todos os parâmetros avaliados estão dentro da faixa de normalidade. Foram encontradas correlações significativas entre o zinco plasmático e o ferro sérico (r=0,271; p=0,040) e, entre o zinco plasmático e a saturação da transferrina (r=0,287; p=0,029), assim como no estudo de MAFRA, CUPPARI, COZZOLINO (2002) citado anteriormente. No entanto, avaliação de outros parâmetros, como a concentração da ZPP, por exemplo, poderia responder melhor a este questionamento.

A excreção urinária de 24 horas de zinco, tanto para as pacientes com AR quanto para o grupo controle, estão abaixo do valor de normalidade (300 a 600μgZn/24h) e não apresentaram diferença significativa entre os grupos (p=0,643) (Tabela 8). Outro fator que deve ser considerado é a variação do volume urinário

obtido em 24 horas tanto das pacientes com AR como do grupo controle (Figura 12), que pode influenciar nos resultados das concentrações de urinárias de zinco.

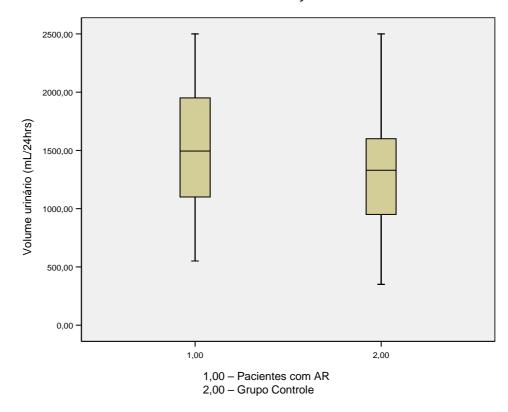


Figura 12. Volume urinário médio (mL/24horas) das pacientes com AR e do grupo controle. São Paulo, 2013.

Este biomarcador tem sido pouco utilizado para avaliação do estado nutricional de indivíduos relativo ao zinco. Os poucos estudos na literatura mostram que a excreção urinária deste mineral em alguns casos pode estar aumentada ou com valores muito semelhantes à de indivíduos do grupo controle, ou seja, sem variações (MILANINO et al.1993; JEPSEN; PEDERSEN, 1984). A excreção urinária de zinco pode estar reduzida quando há deficiência sistêmica do mineral e elevada após o uso de medicamentos ou na presença de doenças. Em indivíduos saudáveis, a perda de zinco na urina é de aproximadamente 0,7mgZn/dia (GIBSON, 2008; YUYAMA et al., 2012; MARREIRO, 2013)

A redução das concentrações urinárias de zinco nos dois grupos avaliados pode ter ocorrido como uma forma de manutenção da sua homeostase no organismo, visto que a ingestão deste mineral tanto das pacientes do grupo caso quanto das participantes do grupo controle estavam abaixo do recomendado.

A avaliação do estresse oxidativo foi feita através das análises de 8isoprostanos na urina e das enzimas SOD no eritrócito e GPx no sangue total (Tabela 10).

Tabela 10. Valores médios (DP) da atividade das enzimas SOD eritrocitária e GPx no sangue total, 8-isoprostano e creatinina urinária das pacientes com AR e do grupo controle. São Paulo, 2013.

	Média	Me	diana	Vmin		Vmáx			
Váriaveis	Caso (n=59)	Controle	Caso	Controle	Caso	Controle	Caso	Controle	p
	Caso (11=39)	(n=56)	(n=59)	(n=56)	(n=59)	(n=56)	(n=59)	(n=56)	
SOD (U/gHb)	1333,8 (420,8)	1755,0 (525,5)	1301	1844,9	486,5	446,7	2583,2	3381,2	<0,001†
GPx (U/gHb)	38,2 (17,0)	52,6 (14,4)	37,5	52,7	6,3	12,8	82,7	82,2	<0,001†
8-Isoprostano (ng/mmol de creatinina)	133,8 (175,4)	139,3 (52,7)	27,0	44,8	27,0	44,8	1293,0	309,9	0,836†
Creatinina urinária (mmol/L)	5,2 (2,5)	7,6 (4,7)	4,7	6,3	1,9	2,3	13,9	22,5	0,004§

n= número de participantes; DP= desvio padrão; Vmín= valor minimo; Vmáx= valor máximo; SOD= superóxido dismutase; GPx= glutationa peroxidase; Hb= hemoglobina.

A atividade da SOD no eritrócito e da GPx no sangue total das pacientes com AR foram significativamente menores quando comparado ao grupo controle (p<0,001 e p<0,001, respectivamente). Estes resultados estão de acordo com os observados por CHANDANKHEDE; GUPTA (2013), BAE et al. (2003) e SEVEN et al. (2008). Ao avaliar a atividade destas enzimas de acordo com o grau de atividade da doença, também não foi encontrada diferença significativa.

Os estudos que avaliaram a atividade da SOD e da GPx ainda são controversos. KARATAS et al. (2003) observaram uma atividade significativamente menor das enzimas SOD (p<0,005) e GPx (p<0,05) em pacientes diagnosticados com AR do que no grupo controle. Já TAYSE et al. (2002), encontraram uma atividade significativamente maior (p<0,001) da SOD nos pacientes com AR quando comparado ao grupo controle. Diferente da SOD, a GPx apresentou uma menor atividade no grupo caso (p<0,001). O excesso de radicais superóxido produzidos levou, neste caso, a um aumento da atividade da SOD que irá dismutar estes radicais e formar o H_2O_2 . No entanto, o H_2O_2 pode não estar sendo destoxificado

[§] Teste de Mann-Whitney considerando valor significativo p<0,05.

[†] Teste T-Student para amostras independentes considerando valor significativo p<0,05.

adequadamente devido à baixa atividade da GPx. Este mecanismo prejudicado pode resultar na formação de outros radicais, como o OH•, e causar danos oxidativos.

A atividade de enzimas, como a SOD e a GPx, dependem da participação de cofatores enzimáticos, como por exemplo, os antioxidantes de origem dietética. A SOD é uma enzima que depende de átomos de cobre e zinco para que possa desempenhar sua função como antioxidante enzimático (BARBOSA et al., 2010). Considerando o fato de que as pacientes com AR deste estudo não possuem uma ingestão adequada de zinco, acredita-se que a baixa atividade desta enzima possa ser atribuída à quantidade insuficiente de substrato para manter sua atividade normal.

No caso da GPx, enzima dependente de selênio, sugere-se que as pacientes possam estar com uma ingestão inadequada e, consequentemente com baixas concentrações bioquímicas deste mineral. No entanto, estes parâmetros não foram avaliados nesta pesquisa.

Os estudos na literatura relacionados à atividade da SOD e as concentrações de zinco em pacientes com AR são escassos. TUNCER et al. (1999) encontraram uma baixa concentração de zinco no plasma e elevada no eritrócito, assim como o observado na presente pesquisa. Entretanto, ao contrário dos resultados deste estudo, a atividade da SOD foi maior no grupo com AR do que nos controles (p<0,001). A produção exacerbada de EROs em processos inflamatórios faz com a enzima tenha uma atividade maior, atuando como um mecanismo compensatório para eliminar estes compostos.

Além da falta de substrato suficiente para exercer sua atividade normal, a diminuição da atividade da SOD pode indicar um processo de degradação da enzima por EROs durante o processo de destoxificação. A baixa atividade da GPx também pode ocorrer pelo fato da enzima ser inativada pelo excesso de H₂O₂ em consequência à conjugação da GHS com radicais livres (SEVEN et al., 2008).

Pequenas quantidades de compostos antioxidantes como a GSH, a GPx e a SOD foram observadas no liquido sinovial de humanos. Assim, os radicais livres produzidos por fagócitos nas articulações inflamadas não são eliminados com eficácia resultando em um aumento dos níveis de peroxidação lipídica tanto no liquido sinovial como no sangue, resultado do transporte destes produtos pela circulação sanguínea (SEVEN et. al., 2008).

Alguns estudos mostraram que o tratamento farmacológico pode influenciar no estresse oxidativo destes pacientes. O MTX, fármaco de primeira escolha no tratamento da AR, é capaz de suprimir, direta ou indiretamente a produção de metabólitos ativos de oxigênio induzidos pela IL-6, produzida após estimulo do TNF-α nas células sinoviais. Por outro lado, outros estudos verificaram que baixas doses deste medicamento induzem à apoptose com o envolvimento de EROs mais acentuada em linhagem de linfócitos T do que em monócitos. Os inibidores de TNF-α também mostram efeito redutor dos marcadores de estresse oxidativo em pacientes com AR (FILIPPIN et al., 2008) .

Com um sistema de defesa antioxidante prejudicado, a produção de radicais livres continua elevada podendo causar danos ao DNA, aumento da peroxidação lipídica e este desequilíbrio contribui para os danos teciduais e o processo inflamatório na AR. Em estudos experimentais, observou-se que a produção elevada de EROs podem levar a uma aceleração no dano à cartilagem articular e à ativação de osteoclastos, que irão atuar na degradação óssea (CHANDANKHEDE; GUPTA, 2013).

A concentração de 8-isoprostano urinário também foi utilizado como parâmetro para avaliação do estresse oxidativo neste estudo. Os isoprostanos são substâncias do tipo prostaglandinas que são produzidos *in vivo*, independentemente das ciclooxigenases, induzidos principalmente pela peroxidação do ácido araquidônico por meio de radicais livres. Entre as subclasses dos isoprostanos está o F2-isoprostano, que tem como principal e mais abundante composto o 8-Iso-PGF_{2a}, avaliado na maioria dos ensaios. Estudos observam que estes compostos encontram-se elevados em várias doenças e acredita-se que esteja associado a um estado oxidativo no organismo. As vantagens da análise de F2-isoprostanos estão relacionadas ao fato de serem compostos quimicamente estáveis, produtos específicos de peroxidação e formados *in vivo*. Além disso, estão presentes em quantidades detectáveis em tecidos e fluidos biológicos normais e não são afetados pelo conteúdo de lipídeos da dieta. Atualmente a análise da concentração de F2-isoprostanos é considerada o melhor biomarcador para avaliação do estresse oxidativo e da peroxidação lipídica (MONTUSCHI et. al., 2004; BASU, 2008).

A concentração urinária de 8-isorprostano é um parâmetro frequentemente utilizado em pesquisas por ser um marcador onde estes compostos encontram-se

altamente estáveis e por se tratar de um meio de coleta não invasivo (MONTUSCHI et al., 2004).

Neste estudo as concentrações médias de 8-isoprostano urinário foram maiores no grupo controle do que nos pacientes com AR, porém esta diferença não foi significativa (p=0,836). As variações observadas entre as concentrações deste marcador nos dois grupos podem ser atribuídas aos valores de creatinina urinária que também apresentaram oscilações. Além disso, ambos os grupos apresentaram concentrações médias acima dos valores de referência (10-50ng/nmol creatinina), o que poderia estar relacionado com o *status* de deficiência em zinco observado nos dois grupos do estudo. Não foram observadas correlações significativas entre este biomarcador e as concentrações plasmáticas e urinárias de zinco, bem como para as variáveis idade e IMC de ambos os grupos, e PCR, VHS, tempo da doença e DAS28 das pacientes com AR.

São escassos na literatura os estudos que avaliaram as concentrações deste biomarcador em pacientes com AR. RHO et. al. (2010) observou concentrações urinárias de F2-isoprostanos significativamente maiores em pacientes com AR do que no grupo controle (p<0,001). As concentrações de 8-Iso-PGF $_{2\alpha}$ avaliadas no soro e no liquido sinovial de pacientes com vários tipos de doenças reumáticas também foi maior quando comparado a um grupo controle. Neste caso, é possível constatar que a formação de radicais livres altamente reativos contribui não só nos sítios de inflamação crônica específicos como, por exemplo, nas articulações, mas que também podem se expandir pela corrente sanguínea e ocasionar um dano oxidativo sistêmico (BASU et al., 2001).

Com relação à análise de genotipagem do SNP Arg213Gli não foi encontrado nenhuma participante com o genótipo homozigoto (Gli/Gli) para o polimorfismo tanto para o grupo de pacientes com AR como para o grupo controle. Para o grupo de pacientes com AR apenas um individuo tinha o genótipo heterozigoto (Arg/Gli). Quanto aos indivíduos do grupo controle, todas as participantes são homozigotos selvagens (Arg/Arg) para o SNP estudado. Devido à baixa frequência destes dois genótipos, não foi possível realizar testes de comparações entre as variáveis e os grupos deste estudo.

Ressalta-se mais uma vez que não existem estudos que avaliaram a frequência deste polimorfismo na população brasileira, sendo este, portanto, o

primeiro trabalho a avaliar este SNP. Apesar do pequeno número amostral deste estudo já foi possível obter alguns dados preliminares sobre a frequência dos genótipos relacionados a este SNP. Embora em outros países a frequência deste polimorfismo seja alta, é importante lembrar que o Brasil é um país que possui uma grande mistura de etnias. Assim mais estudos com outras populações e em diferentes regiões do país são necessários para mapear com mais detalhes a frequência deste polimorfismo no Brasil.

8. CONCLUSÃO

De acordo com os parâmetros bioquimicos analisados e a avaliação da ingestão, conclui-se que os pacientes com AR encontram-se deficientes em zinco e apresentam um aumento do estresse oxidativo, sugerindo a necessidade de uma suplementação deste mineral. A frequência do polimorfismo Arg213Gli na população estudada foi muito baixa, com apenas um individuo apresentando genótipo heterozigoto (Arg/Gli).

9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADACHI, T.; WANG, X.L. Association of extracellular-superoxide dismutase phenotype with the endothelial constitutive nitric oxide synthase polymorphism. **FEBS Lett**. vol. 433, p.166–168,1998.

ADACHI, T.; YAMADA, H.; YAMADA, Y. et al. Substitution of glycine for arginine-213 in extracellular-superoxide dismutase impairs affinity for heparin and endothelial cell surface. **Biochem J**. vol. 313 (Pt 1), p.235-239, 1996.

ALA, S.; SHOKRZADEH, M.; PUR SHOJA, A.M.; SAEEDI SARAVI, S.S. Zinc and cooper plasma concentrations in rheumatoid arthritis patients from a selected population in Iran. Pak **J Biol Sci**, v.12, n. 14, p.1041-1044, 2009.

ALARMANOS, Y.; DROSOS, A.A. Epidemiology of adult rheumatoid arthritis. **Autoimmunity Reviews**. v.4, n.3, p.130-136, 2005.

ACR. American College of Rheumatology Subcommittee on Rheumatoid Arthritis Guidelines: Guidelines for the management of rheumatoid arthritis. **Arthritis Rheum.** v. 46, p.328-346, 2002.

ARNETT, F.C.; EDWORTHY, S.M.; BLOCH, D.A. et al. The American Rheumatism Association 1987 revised criteria for classification of rheumatoid arthritis. **Arthritis Rheum**, n.31, p.315-324, 1988.

BABIOR, B.M.; KIPNES, R.S.; KURNUTTE, J.T. Biological defense mechanisms: the production of superoxide by leukocytes, a potential bactericidal agent. **J. Clin.Invest.** v.52, p.741-746, 1973.

BAE, S.C.; KIM, S.J.; SUNG, M.K. Inadequate antioxidant nutrient intake and altered plasma antioxidant status of rheumatoid arthritis patients. **Am. College of Nutrition**. v.22, n.4, p.311-315, 2003.

BALOGH, Z.; EL-GHOBAREY, A.; FELL, G.S.; BROWN, D.H.; DUNLOP, J.; DICK, W.C. Plasma zinc and its relationship to clinical symptoms and drug treatment in rheumatoid arthritis. **Annals of the Rheumatic Disease.** v.39, p. 329-332, 1980.

BARBOSA, K.B.F.; COSTA, N.M.B.; ALFENAS, R.C.G.; DE PAULA, S.O.; MINIM, V.P.R.; BRESSAN, J. Estresse oxidativo: conceito, implicações e fatores modulatórios. **Rev. Nutr.**, v.24, n.4, p.629-643, 2010.

BARNES, P.J.; KARIN, M. Nuclear Factor-*k*B — A pivotal transcription factor in chronic inflammatory diseases. **The New England Journal of Medicine**. v.336, n. 15, p.1066-1071, 1997.

BÉRTOLO, MB. et al. Atualização do Consenso Brasileiro de Diagnóstico e Tratamento da Artrite Reumatóide. **Rev. Bras. Reumatol**. v.47, n.3, p.151-159, 2007.

BASU, S.; WHITEMAN, M.; MATTEY, D.L.; HALLIWELL, B. Raised levels of F2 isoprostanes and prostaglandina $F_{2\alpha}$ in different rheumatic diseases. **Ann. Rheum. Dis.**, v.60, p. 627–631, 2001.

BASU, S. F₂-Isoprostanes in Human Health and Diseases: From Molecular Mechanisms to Clinical Implications. **Antioxidants & Redox Signaling.** v. 10, n. 8, p. 1406-1426, 2008.

BRENOL, C.V.; MONTICIELO, O.A.; XAVIER, R.M.; BRENOL, J.C.T. Artrite reumatoide e aterosclerose. **Rev. Assoc. Med. Bras.**, n.53, v.5, p.465-470, 2007.

BRUKER, P.U.; IZZO, N.J.; CHU, C.R. Tonic Activation of Hypoxia-Inducible Factor 1 in Avascular Articular Cartilage and Implications for Metabolic Homeostasis. **Arthritis & Rheumatism**. v.. 52, n. 10, p. 3181–3191, 2005.

BURY, N.R.; CHUNG, M.J.; STURM, A.; WALKER, P.A.; HOGSTRAND, C. Cortisol stimulates the zinc signaling pathway and expression of metallothioneins and ZnT1 in rainbow trout gill epitelial cells. **Am J Physiol Integr Comp Physiol**. v. 294, n. 2, p.623-629, 2008.

CASTELLI, W.P.; ABBOTT, R.D.; MCNAMARA, P.M. Summary estimates of cholesterol used to predict coronary heart disease. **Circulation**, v.67, n. 4, p. 730-734, 1983.

CEDERGREN, J.; FORSLUND, T.; SUNDQVIST, T.; SKOGH, T. Intracellular oxidative activation in synovial fluid neutrophils from patients with rheumatoid arthritis but not form other arthritis patients. **J. Rheumatol.**, v. 34, p.2162-2167, 2007.

CHANDANKHEDE, M.S.; GUPTA, M.M. Oxidative stress and antioxidant status in patients with rheumatoid arthritis. **Int J Biol Med Res**. v.4, n. 2, p.3088-3090, 2013.

CHISTYAKOV, D.A.; SAVOS TANOV, K.V.; ZOTOVA, E.V.; NOSIKOV, V.V. Polymorphism in the Mn-SOD and EC-SOD genes and their relationship to diabetic neuropathy in type I diabetes mellitus. **BCM Med.Genet**. v.4, n.2., 2001.

CHOY, E.H.S.; PANAYI, G.S. Cytokine pathways and joint inflammation in rheumatoid arthritis. **N. Engl. J. Med.**, n.12, v.344, p.907-916, 2001.

CHUNG, C.S.; STOOKEY, J.D.; DARE, D. Current dietary zinc intake has a greater effect on fractional zinc absorption than does longer term zinc consumption in health adult men. **Am. J. Clin. Nutr.** v.87, p.1224-1229, 2008.

COMINETTI, C.; GARRIDO, A.B.; COZZOLINO, S.M.F. Zinc Nutritional Status of Morbidly Obese Patients Before and After Roux-en-Y Gastric Bypass: A Preliminary Report. **Obesity Surgery**. v.16, n.4, p.448-453, 2006.

COUSINS, R.J.; MCMAHON, R.J. Integrative aspects of zinc transporters. **J Nutr**, v.130, s. 5, p.1384-1387, Philadelphia 2000.

CROWSON, S.C.; MATTESON, E.L.; DAVIS III, J.M.; GABRIEL, S.E. Contribution of Obesity to the Rise in Incidence of Rheumatoid Arthritis. **Arthritis Care & Research.** v. 65, n. 1, p. 71-77, 2013.

DARLINGTON, L.G.; RAMSEY, N.W. Review of dietary therapy for rheumatoid arthritis. **Br J Rheumatol**. v.32, p. 507-514, 1993.

DORIA, A.; SHERER, Y; MERONI, P.L.; SHOENFELD, Y. Inflammation and accelerate atherosclerosis: basic mechanisms. **Rheum. Dis. Clin. N. Am.**, v.31, p. 355-362, 2005.

DAVIS, C.D.; MILNE, D.B.; NIELSEN, H. Changes in dietary zinc and cooper affect zinc status indicators of postmenopausal woman, notably, extracellular superoxide dismutase and amyloid precursor proteins. **Am. J. Clin. Nutr.**, v.71, p.781-788, 2000.

ENGHILD, J.J.; THOGERSEN, I.B.; OURY, T.D.; VALNICKOVA, Z.; HOJRUP, P.; CRAPO, J.D. The heparin-binding domain of extracellular superoxide dismutase is proteolytically processed intracellularly during biosynthesis. **J Biol Chem**. v.274, p.14818-14822, 1999.

EVANGELISTA, K.C.M.S. Efeito da suplementação com minerais antioxidantes em pacientes com aterosclerose tratados com estatina. Tese de Doutorado – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, 2010.

FARACI, F.M.; DIDION, S.P. Vascular protection: Superoxide dismutase isoforms in the vessel wall. **Arterioscler Thromb Vasc Biol.**, v.24, p.1367-1373, 2004.

FATTMAN, C.L.; SCHAEFER, L.M.; OURY, T.D. Extracellular superoxide dismutase in biology and medicine. **Free Radical Biol.Med.**, v.35, n.3, p.236-256, 2003.

FERNANDES, V.; ASSIS, T.M.; QUEIROZ, C.C.; FIGEUIREDO, P.P.R.; OLIVEIRA, R.U.; SILVA, N.A. Rev. Bras. Reumatol., v. 51, n. 3, p.220-230, 2011.

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

FILIPPIN, L.T.; VERCELINO, R.; MARRONI, N.P.; XAVIER, R.M. Redox signaling and the inflammatory response in rheumatoid arthritis. **Clin. Experimental Immunology**, v.152, p.415-422, 2008.

FISBERG, R.M.; MARCHIONI, D.M.L.; COLUCCI, A.C.A. Avaliação do consumo alimentar e da ingestão de nutrientes na prática clinica. **Arq. Bras.Endocrinol. Metabol.**, v.53, n.5, p.617-624, 2009.

FISBERG, R.M.; MARTINI, L.A.; SLATER, B. Métodos de Inquéritos Alimentares. In: FISBERG, R.M.; SLATER, B.; MARCHIONI, D.M.L.; MARTINI, L.A. Inquéritos Alimentares: Métodos e bases científicos.1º edição. Editora Manole. Barueri, São Paulo, 2005.

FOLZ, R. J.; CRAPO, J. D. Extracellular superoxide dismutase (SOD3): tissue-specific expression, genomic characterization, and computer-assisted sequence analysis of the human EC SOD gene. **Genomics**. v. 22, p.162–171, 1994.

FRIEDEWALD, W, T.; LEVY, R. I.; FREDRICKSON, D. S. Estimation of the Concentration of Low-Density Lipoprotein Cholesterol in Plasma, without Use of the Preparative Ultracentrifuge. **Clin. Chem.**, v. 18, n. 6, p. 499-502, 1972.

FUKAI, T.; USHIO-FUKAI, M. Superoxide dismutases: role in redox signaling, vascular function and diseases. **Antioxidants & Redox Signaling**. v.15, n.16, p.1583-1606, 2011.

GARCIA, R.W.D. Representações sobre consumo alimentar e suas implicações em inquéritos alimentares: estudo qualitativo em sujeitos submetidos à prescrição dietética. **Rev. Nutr.** v.17, n.1, p.15-28, 2004.

GARCÍA-GÓMEZ, C.; NOLLA, J.M.; VALVERDE, J.; GÓMEZ-GERIQUE, J.A.; CASTRO, M.J.; PINTÓ, X. Conventional lipid profile and lipoprotein(a) concentrations in treated patients with rheumatoid arthritis. **J. Rheumatol.**, v. 36, n. 7, p.1365-1370, 2009.

GEISSLER, C. Powers H. Human nutrition. Elsevier Churchill Livingstone. 11th ed. United Kingdom, London, 2005.

GIBSON, R.S. Principles of nutricional assessment. 1 edição, Oxford University Press, New York, 1990.

GIBSON, R.S. Indicators of zinc status at the population level: a review of the evidence. **British J. Nutri.**, v.99, Suppl.3, p.S14-S23, 2008.

GRAMMER, T.B.; RENNER, W.; HOFFMANN, M.M.; KLEBER, M.; WINKELHOFER-ROOB, B.M.; BOEHM, B.O.; MAERZ, W. SOD3 R231G polymorphism associated with coronary artery disease and myocardial infarction. The Ludwigshafen Risk and Cardiovascular Health (LURIC) study. **Free Radical Research**, v. 42, n. 7, p.677-684, 2009.

HAGFORS, L.; LEANDERSON, P.; SKÖLDTAM, L.; ANDERSSON, J.; JOHANSSON, G. Antioxidant intake, plasma antioxidants and oxidative stress in a randomized, controlled, parallel, Mediterranean dietary intervention study on patients with rheumatoid arthritis. **Nutrition Journal.** v.2, n.5, p. 2-11, 2003.

HELLIWELL, M.; COOMBES, E.J.; MOODY, B.J.; BATSTONE, G.F.; ROBERTSON, J.C. Nutritional status in patients with rheumatoid arthritis. **Annals of the Rheumatic Disease.** v.43, p.386-390, 1984.

HELLIWELL, B.; CHIRICO, S. Lipid peroxidation: its mechanisms, measurement, and significance. **Am. J. Clin. Nutr.**, v. 57 (suppl), p.715S-725S, 1993.

HEMPE, J.M.; COUSINS, R.J. Cystein-rich intestinal protein and intestinal metallothionein: an inverse relationship as a conceptual model for zinc absorption in rats. **J Nutr.**, v. 122, p.89-95, 1992.

HAN, Z.N.; BOYLE, D.L.; MANNING, A.M.; FIRESTEIN, G.S. AP-1 and NF-κB regulation of I kappaB kinase activity through IKKβ subunit phosphorylation. **Genes Dev**. v.9, p. 309-313, 1999.

HENRIQUES, G. S; HIRATA, M. H.; COZZOLINO, S. N. F. Aspectos recentes da absorção e biodisponibilidade do zinco e suas correlações com a fisiologia da isoforma testicular da enzima conversora de angiotensina. **Rev. Nutr.**, v.16, n. 3, p.333-345, Campinas, 2003.

HEYNINCK, K.; BEYARET, R. The cytokine-inducible zinc finger protein A20 inhibits IL-1-induced NF-κB activation at the level of TRAF6. **FEBS Lett**. v.442, p.147-150, 1999.

HITCHON, C.A.; EL-GABALAWY, H.S. Oxidation in rheumatoid arthritis. **Arthritis Res Ther**, v. 6, p.265-278, 2004.

HONKANEN, V.E.A.; LAMBERG-ALLARDT, C.H.; VESTERINEN, M.K.; LEHTO, J.; WESTERMARK, T.W.; METSÄ-KETELÄ, T.K.; MUSSALO-RAUHAMAA; KONTTINEN, Y.T. Plasma zinc and copper concentrations in rheumatoid arthritis: influence of dietary factors and disease activity. **Am. J. Clin. Nutr.** v.54, p.1082-1086, 1991.

IOM. INSTITUTE OF MEDICINE. Dietary Reference Intakes (DRIs): Recommended Intakes for Individuals, Elements. National Academy of Sciences, 2001.

JAATTELA, M.; MOURITZEN, H.; ELLING, F.; BASTHOLM, L. A20 finger protein inhibits TNF and IL-1 signaling. **J. Immunol**. v.156, p.1166-1173, 1996.

JACKSON, M.J. Physiology of zinc: general aspects. In: Mills CF, editor. Zinc in human biology. p.323-233. London:Springer-Verlag; 1989.

JAIME, P.C.; LATORRE, M.R.D.O.; FORNÉS, N.A.S.; ZERBINI, C.A.F. Estudo comparative entre dois métodos de ajuste energético do consume de nutrients. **Nutrire (SBAN)**, São Paulo, v.26, p.11-18, 2003.

JAYSON, M.I.; DIXON, A.S. Intra articular pressure in rheumatoid arthritis of the knee. Pressure changes during joint use. **Ann. Rheum. Dis.**, v. 29, p.401-408, 1970.

JENEY, V., ITOH, S., WENDT, M., GRADEK, Q., USHIO-FUKAI, M., HARRISON, D. G., et al. Role of antioxidant-1 in extracellular superoxide dismutase function and expression. **Circ. Res.**,v. 96, n.7, p.723–729, 2005.

JEPSEN, L.V.; PEDERSEN, H. Changes in zinc and zinc-dependent enzymes in rheumatoid patients during penicillamine treatment. **Scand. J. Rheumatol.**, v.13, p.282-288, 1984.

JUUL, K., TYBJAERG-HANSEN A, MARKLUND, S., et al. Genetically reduced antioxidative protection and increased ischemic heart disease risk: the Copenhagen City Heart Study. **Circulation**. v. 109, p.59–65. 2004.

KAHLENBERG, J.M.; FOX, D.A. Advances in medical treatment of rheumatoid arthritis. **Hand Clin**. v.17, p.11-20, 2011.

KAMANLI, A.; NAZIROĞLU, M.; AYDILEK, N.; HACIEVLIYAGIL, C. Plasma lipid peroxidation and antioxidant levels in patients with rheumatoid arthritis. **Cell Biochem Funct**. v.22,n.1, p.53–57. 2004.

KARATAS, F.; OZATES, I.; CANATAN, H.; HALIFEOGLU, I.; KARATEPE, M.; COLAK, R. Antioxidant status & lipid peroxidation in pacients with rheumatoid arthritis. **Indian. J.Med.Res**. v.118, p.178-181, 2003.

KARLSSON, K.; LINDAHL, U.; MARKLUND, S.L. Binding of human extracellular superoxide dismutase C to sulphated glycosaminoglycans. **J Biochem**. v.256, p.29–33, 1988.

KIILERICH, S.; CHRISTENSEN, M.S.; NAESTOFT, J. CHRISTENSEN, C. Determination of zinc in serum and urine by absorption spectrophotometry; relationship between serum levels of zinc and proteins in 104 normal subjects. **Clin.Chim.Acta**, v.105, p.231-239, 1980.

KING, J.C.; SHAMES, D.M.; WOODHOUSE, L.R. Zinc homeostasis in humans. J. Nutr. v.130, p. 1360S-1366S, 2000.

KLOTZ, L.O.; KRÖNCKE, K.D.; BUCHCZYK, D.P.; SIES, H. Role of cooper, zinc, selenium and tellurium in the cellular defense against oxidative and nitrosative stress. **J. Nutr.** v.133, n. 5, Suppl. 1, p.1448S-1451S, 2003.

KREBS, N.F.; HAMBIDGE, K.M. Zinc in metabolism and homeostasis: the application of tracer techniques to human zinc physiology. **Biometals**. v.14, p.397-412, 2001.

KRIKOS, A.; LAHERTY, C.; DIXIT, V.M. Transcriptional activation of the tumor necrosis factor alpha-inducible activation . **Br. J.Pharmacol**.,v.120, p.797-806, 1997.

KURIEN, B. T.; SCOFIELD, R. H. Free radical mediated peroxidative damage in systemic lupus erythematosus. **Life Science**, v. 73, p. 1655–1666, 2003.

KUSHNER, I. Regulation of acute phase response by cytokines. **Perspect. Biol. Med.**, v. 36, n. 4, p.611-622, 1993.

KWOH, C.K. American College of Rheumatology Subcommittee on Rheumatoid Arthritis. Guidelines for the Management of Rheumatoid Arthritis. **Arthritis Rheum**. v.46, p.328-346, 2002.

LAURINDO I.M.M. Artrite reumatoide. In: Júlio C. Voltarelli; Eduardo A. Donadi; Ivan F. de Carvalho; L. Karla Arruda; Paulo Lozada Junior; Willy Sarti. (Org.). Imunologia clínica na prática médica. 1ª ed. São Paulo: Editora Atheneu, 2009, v. 1, p. 623-636.

LIBBY, P; RIDICKER, P.M.; MASERI, A. Inflammation and Atherosclerosis. **Circulation**. v.105, p.1135-1143, 2002.

LÖNNERDAL, B. Dietary factors influencing zinc absorption. **J. Nutr.** v.130, p.1378S-1383S, 2000.

LOWE, N.M.; FEKETE, K.; DECSI, T. Methods of assessment of zinc status in human: a systematic review. **Am. J. Clin. Nutr.** v.89, p.1S-12S, 2009 (suppl).

MAFRA, D.; COZZOLINO, S.M.F. Importância do zinco na nutrição humana. **Rev. Nutr.** v.17, n. 1, p.79-87. Campinas, 2004.

MAFRA, D.; COZZOLINO, S.M.F. Zinco protoporfirina como parametro de deficiencia de ferro na insuficiencia renal cronica. **J. Bras. Nefrol.**, v.22, n.3, p.152-156, 2000.

MAFRA, D.; CUPPARI, L.; COZZOLINO, S.M.F. Iron and zinc status of patients with chronic renal failure who are not on dialysis. Journal of Renal Nutrition, v. 12, n. 1,: p. 38-41, 2002.

MARREIRO, D.N. Zinco. In: COZZOLINO, S.M.F.; COMINETTI, C. Bases bioquimicas e fisiologicas da nutrição: nas diferentes fases da vida, na saúde e na doença. 1 ed. Editora Manole. São Paulo, 2013.

MAHAJAN, A.; TANDON, V. R. Antioxidants and rheumatoid arthritis. Journal of Indian **Rheumatology Association**, v. 12, p.139–142, 2004.

MARKLUND, S.L.; BJELLE, A.; ELMQVIST, L.G. Superoxide dismutase isoenzymes of the synovial fluid in rheumatoid arthritis and in reactive arthritis. **Annals Rheumatic Diseases**. v.45, p.847-851, 1986.

MCLNNES, I.B.; SCHETT, G. Cytokines in the pathogeneses of rheumatoid arthritis. **Nature Reviews**. v.7, p.429-442, 2007.

MIERZECKI, A.; STRECKER, D.; RADOMSKA, K. A pilot study on zinc levels in patients with rheumatoid arthritis. **Biol Trace Elem Res.**, v. 143, n. 2, p. 854-862, 2011.

MILANINO, R.; FRIGO, A.; BAMBARA, L.M.; MARELLA, M.; MORETTI, U.; PASQUALICCJIO, M.; BIASI, D.; GASPERINI, R.; MAINENTI, L.; VELO, G.P. Copper and zinc status in rheumatoid arthritis: studies of plasma, erythrocytes, and urine, and their relationship to disease activity markers and pharmacological treatment. **Clinical and Experimental Rheumatology.**, v. 11, n. 3, p.271-281, 1993.

MONTUSCHI, P.; BARNES, P.J.; ROBERTS II, L.J. Isoprostanes: markers and mediators of oxidative stress. **FASEB Journal**., v. 18, p.1791-1800, 2004.

MOCCHEGIANE, E.; FABRIS, N. Age related thymus involution: zinc reverses in vitro the thymulin secretion effect. **Int. J. Imunopharmacol**. v.17, p.745-749, 1995.

MOTA, L.M.H.; CRUZ, B.A.; BRENOL, C.V.; PEREIRA, I.A.; REZENDE-FRONZA, L.S.; BERTOLO, M.B.; FREITAS, M.V.C.; SILVA, N.A.; LOUZADA-JUNIOR, P.; GIORGI, R.D.N.; LIMA, R.A.C.; PINHEIRO, G.R.C. Consenso 2012 da Sociedade Brasileira de Reumatologia para o tratamento da artrite reumatoide. **Rev Bras Reumatol.**, v. 52, n. 2, p.135-174, 2012.

MUSSALO-RAUHAMMA, H.; KONTTINEN, Y.T.; LEHTO, J.; HONKANEN, V. Predictive clinical and laboratory parameters for serum zinc and cooper in rheumatoid arthritis. **Annals of the Rheumatic Disease.** v.47, p.816-819, 1988.

NAKAMURA, M.; ANDO, Y.; SASADA, K. et al. Role of extracellular superoxide dismutase in patients under maintenance hemodialysis. **Nephron Clin Pract**. v.101, p.109–115. 2005.

NETO, N.S.R.; CARVALHO, J.F. O uso de provas de atividade inflamatória em reumatologia. **Rev. Bras. Reumatol.** v.49, n. 4, p.413-430, 2009.

NOZIK-GRAYKE, E.; SULIMAN, H.B.; PIANTADOSI, C.A. Extracellular superoxide dismutase. **Inter. J. Biochem. Cell Biol**. v.37, p.2466-2471, 2005

O´DELL, J.R. Therapeutic strategies for rheumatoid arthritis. **N. Engl. J. Med.** v.350, p.2591-2602, 2004.

OLIVEIRA, K.D.J..F.D.; KOURY, J.C.; DONANGELO, C.M. Micronutrientes e capacidade antioxidante em adolescentes sedentários e corredores. **Rev. Nutr.**, v.20, n. 2, p. 171-179, 2007.

ÖNAL, S.; NAZIROGLU, M.; ÇLAK, M.; BULUT, V.; FLORES-ARCE, M.F. Effects of different medical treatments on serum cooper, selenium and zinc levels in patients with rheumatoid arthritis. **Biol Trace Elem Res**, v., 2010.

OZTÜRK, H.S.; CIMEN, M.Y.; CIMEN, O.B.; KAÇMAZ, M.; DURAK, I. Oxidant/antioxidant status of plasma samples from patients with rheumatoid arthritis. **Rheumatol Int.** v.19, v.1–2, p.35–37, 1999.

PAIVA, A.A.; RONDÓ, P.H.C.; GUERRA-SHINOHARA, E.M. Parâmetros de avaliação do estado nutricional de ferro. **Rev. Saúde Pública**, v.34, n.4, p.421-426, 2000.

PARKIN, G. Chemistry. Zinc-zinc bounds: a new frontier. **Science**. v.305, p.1117-1118, 2004.

PEREIRA, I.A. Aterosclerose na artrite reumatoide e sua associação com autoimunidade humoral. Tese de Doutorado - Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, 2006. PERSINOTI, G.F. Auxilio no diagnóstico de artrite reumatoide através de técnicas de inteligência artificial. 2009. 100fl. Dissertação de Mestrado. Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo. São Paulo, 2009.

POZZI, F.S. Cinética plasmática da lipoproteína de baixa densidade e avaliação dos aspectos qualitativos da lipoproteína de alta densidade em indivíduos com artrite reumatóide. 2012. 76fl. Tese de Doutorado. Faculdade de Medicina – Universidade de São Paulo. São Paulo, 2012.

PRASAD A.S. Discovery of human zinc deficiency: impact of human health. **Nutrition, Tarrytown**, v.17, n.7/8, p.685-686, 2001 [Editorial Material].

PRASAD, A. Zinc in Human Health: Effect of Zinc on Immune Cells. **Mol. Med.**, v.14, p.353-357, 2008.

PRASAD, A.S. Zinc: role in immunity, oxidative stress and chronic inflammation. **Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care**. v.12, p.646–652, 2009.

PRASAD, A.S.; BIN BAO, M.D.; FRANCES, W.J.B.; FAZLUL, H.S. Zinc-suppressed inflammatory cytokines by induction of A20-mediated inhibition of nuclear factor-kB. **Nutrition**. P.1-8, 2010.

PROUDFOOT, J.; BARDEN, A.; MORI, T. A.; BURKE, V.; CROFT, K. D.; BEILIN, L. J.; PUDDEY, I. B. Measurement of Urinary F2-Isoprostanes as Markers of *in Vivo* Lipid Peroxidation - A Comparison of Enzyme Immunoassay with Gas Chromatography/Mass Spectrometry. **Analytical Biochemistry**, v. 272, n. 2, p. 209-215, 1999.

PUENTES-TORRES, L.; TORRES, G.F.; MENDONZA, C.A.; RAMÍREZ, A.B. Evaluación del estado nutricio en una población Mexicana de pacientes adultos con artritis reumatoide. **Nutr. Hosp.**, v.24, n. 2, p.233-238, 2009.

RHO, Y.H.; CHUNG, C.; OESER, A.; SOLUS, J.F.; GEBRETSADIK, T.; SHINTANI, A.; RAGGI, P.; MILNE, G.L.; STEIN, M. Interaction between oxidative stress and hdl cholesterol is associated with severity of coronary artery calcification in rheumatoid arthritis. **Arthritis Care Res.**, v. 62, n.10, p.1473-1480, 2010.

RODRIGUEZ, M. P.; NARIZANO, A.; DEMCZYLO, V.; CID, A. A simpler method for the determination of zinc human plasma levels by flame atomic absorption spectrophotometry. **At. Spectrosc.**, v. 10, n. 2, p. 68-70, 1989.

SAKASHITA, N.; ANDO, Y.; MARKLUND, S.L. et al. Familial amyloidotic polyneuropathy type I with extracellular superoxide dismutase mutation: a case report. **Hum Pathol**. v.29, p.1169–72. 1998.

SALGUEIRO, M.J.; ZUBILLAGA, M.; LYSIONEK, A.; SARABIA, M.I.; CARO, R.; DE PAOLI, T.; HAGER, A.; WEILL, R.; BOCCIO, J. Zinc as na essential micronutrient: a review. **Nutr. Res.**, Tarrytown, v.20, n.5, p.737-755, 2000.

SAMOILA, O.C.; CARTER, A.M.; FUTERS, S.T.; OTIMAN, G.; ANGHEL, A.; TAMAS, L.; SECLAMAN, E. Polymorphic variants of extracellular superoxide dismutase gene in a romanian population with ateroma. **Biochem Genet**., v.46, p.634–643, 2008.

SANDSTRÖM J, NILSSON P, KARLSSON K, MARKLUND, S.L. 10-fold increase in human plasma extracellular superoxide dismutase content caused by a mutation in heparin-binding domain. **J Biol Chem**. v.269, p. 19163–19166, 1994.

Sandström B. Bioavailability of zinc. **Eur J Clin Nutr.**, v.51 (Suppl 1), p.S17-S19, 1997.

SARBAN, S. KOCYIGIT, A.; YAZAR, M.; ISIKAN, U.E. Plasma total antioxidant capacity, lipid peroxidation and erythrocyte antioxidant enzyme activities in patients with rheumatoid arthritis and osteoarthritis. **Clin. Biochem.**, v.38, p.981-986, 2005.

SARNI. R.O.S. Avaliação antropométrica e de composição corporal. In: CHEMIN, S.M.S.; MURA, J.D.P. Tratado de Alimentação e Nutrição & Dietoterapia. 2 edição, p.147-155, 2011.

SEVEN, A.; GUZEL, S.; ASLAN, M.; HAMURYUDAN, V. Lipid, protein, DNA oxidation and antioxidant status in rheumatoid arthritis. **Clin. Biochem.**, v.41, p.538-543, 2008.

SHAMI, N.J.I.E.; MOREIRA, E.A.M. Licopeno como agente antioxidante. **Rev Nutr**. v.17, n.2, p. 227-236, 2004.

SOLOMON, D. H.;, KARLSON, E. W.; RIMM, E. B.; CANNUSCIO, C. C.; MANDL, L. A.; MANSON, J. E.; STAMPFER, M. J.; CURHAN, G. C. Cardiovascular morbidity and mortality in women diagnosed with rheumatoid arthritis. **Circulation**, v. 107, p. 1303-1307, 2003.

STAVROPOULOS-KALINOGLOU, A.; METSIOS, G.S.; KOUTEDAKIS, Y.; NEVILL, A.M.; DOUGLAS, K.M.; JAMURTAS, A.; VELDHUIJZEN VAN ZANTEN, J.C.S.; LABIB, M.; KITAS, G.D. Redefining overweight and obesity in rheumatoid arthritis patients. **Ann Rheum Dis.**, v. 66, p. 1316-1321, 2007.

STAVROPOULOS-KALINOGLOU, A.; METSIOS, G.S.; KOUTEDAKIS, Y.; KITAS, G.D. Obesity in rheumatoid arthritis. **Rheumatology**., v.50, p.450-462, 2011.

STROKOV, I.A;, BURSA, T.R.; DREPA, O.I.; ZOTOVA, E.V.; NOSIKOV, V.V.; AMETOV, A.S. Predisposing genetic factors for diabetic polyneuropathy in patients with type 1 diabetes: a population-based case-control study. **Acta Diabetol**. v.40, n.2, p.375–379. 2003.

SWEENEY, S.E.; FIRESTEIN, G.S. Rheumatoid arthritis: regulation of synovial inflammation. **Inter. J. Bichem. Cell. Biol**. v.36, p.372-378, 2004.

SZCKUREK, E.L.; BJORNSSON, C.S.; TAYLOR, C.G.. Dietary zinc deficiency and repletion modulate metallothionein immunolocalization and concentration in small intestine and liver of rats. **J Nutr**. v.131: 2132-2138. 2001

TAPIERO, H.; TEW, K.D. Trace elements in human physiology and pathology: zinc and metallotioneins. **Biomed. Pharmacother**. v.57, p. 399-411, 2003.

TAYSI, S.; POLAT, F.; GUL, M.; SARI, R.A.; BAKAN, E. Lipid peroxidation, some extracellular antioxidants, and antioxidant enzymes in serum of patients with rheumatoid arthritis. **Rheumatol. Int.**, v.21, p.200-204, 2002.

TIBELL, L.A.; SETHSON, I.; BUEVICH, A.V. Characterization of the heparin-binding domain of human extracellular superoxide dismutase. **Biochim Biophys Acta**. v.1340, p.21–32, 1997.

TUNCER, S.; KAMANLI, L.; AKÇIL, E.; KAVAS, G.Ö.; SEÇKIN, B.; ATAY, M.B. Element and magnesium levels and superoxide dismutase activity in rheumatoid arthritis. **Biological Trace Element Research.**, v. 68, p.137-142, 1999.

VALLEE, B. L; FALCHUK, K. H. The biochemical basis of zinc physiology. **Physiological Rev.**, n. 73, p. 79–118, 1993.

VAN DER HELM-VAN MIL, A.H.M.; VAN DER KOOIJ, S.M.; ALLAART, C.F.; TOES, R.E.M.; HUIZINGA, T.W.J. A high body mass index has a protective effect on the amount of joint destruction in small joints in early rheumatoid arthritis. **Ann Rheum Dis.**, v. 67, p. 769-774, 2007.

VASANTHI, P.; NALINI, G; RAJASEKHAR, G. Status of oxidative stress in rheumatoid arthritis. **International Journal of Rheumatic Diseases.**, v. 12, p. 29-33, 2009.

WALSMITH, J.; ROUBENOFF, R. Cachexia in rheumatoid arthritis. **International Journal of Cardiology**., v. 85, p. 89–99, 2002.

WANG, L.; FENG, G. Rheumatoid arthritis increases the risk of coronary heart disease via vascular endothelial injuries. **Medical Hypotheses**, v. 63, p. 442-445, 2004.

WHITEHOUSE, R. C.; PRASAD, A. S.; RABBANI, P. I.; COSSACK, Z. T. Zinc in plasma, neutrophils, lymphocytes and erythrocytes as determined by flameless atomic absorption spectrophotometry. **Clin. Chem.**, v. 28, n. 3, p. 475-480, 1982.

WOLF, F.; FREUNDLICH, B.; STRAUS, W. L. Increase in cardiovascular and cerebrovascular disease prevalence in rheumatoid arthritis. **J. Rheumatol,** v. 30, p. 36-40, 2003.

WOLFE, F.; MICHAUD, K. Effect of body mass index on mortality and clinical status in rheumatoid arthritis. **Arthritis Care & Research.**, v. 64, n. 10, p. 1471–1479, 2012.

YUYAMA, L.K.O.; YONEKURA, L.; AGUIAR, J.P.L.; RODRIGUES, M.L.C.F.; COZZOLINO, S.M.F. Zinco. In: COZZOLINO, S.M.F. Biodisponibilidade de Nutrientes. 4 edição, Editora Manole, 2012, São Paulo, SP.

ZELKO, I.N.; MARIANI, T.J.; FOLZ, R.J. Superoxide Dismutase Multigene Family: A Comparison of the CuZn-SOD (SOD1), MnSOD (SOD2) and EC-SOD (SOD3) Gene Structures, Evolution and Expression. **Free Radic. Biol. Med.** v. 33, n.3, p.337-349, 2002.

ZOLI, A.; ALTOMONTE, L.; CARICCHIO, R.; GALOSSI, A.; MIRONE, L.; RUFFINI, M.P.MAGAR, M. Serum zinc and copper in active rheumatoid arthritis: correlation with interleukin 113 and tumour necrosis fator α. **Clin Rheumatol.**, v.17, p.378-382, 1998.

ZOTOVA, E.V.; CHISTYAKOV, D.A.; SAVOST YANOV, E.V.; BURSA, T.R.; GALEEV, I.V.; STROKOV, I.A.; NOSIKOV, V.V. Association of the *SOD2* Ala(-9)Val and *SOD3* Arg213Gly Polymorphisms with Diabetic Polyneuropathy in Diabetes Mellitus Type 1. **Molec. Biolo.**, v.37, n.3, p.345-348, 2003.

ANEXOS OBRIGATÓRIOS

ANEXO 1 – Documento: Informações para os membros de banca julgadoras de mestrado e doutorado.

ANEXO 2 – Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa FCF/USP;

ANEXO 3 - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE);

ANEXO 4 - Currículo Lattes;

ANEXO 5 - Ficha do Aluno.



UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

Faculdade de Ciências Farmacêuticas Secretaria de Pós-Graduação

Informações para os Membros de Bancas Julgadoras de Mestrado/Doutorado

- 1. O candidato fará uma apresentação oral do seu trabalho, com duração máxima de 30 minutos.
- 2. Os membros da banca farão a arguição oral. Cada examinador disporá, no máximo, de 30 minutos para arguir o candidato, exclusivamente sobre o tema do trabalho apresentado, e o candidato disporá de 30 minutos para sua resposta.
- 2.1 Com a devida anuência das partes (examinador e candidato), é facultada a arguição na forma de diálogo em até 60 minutos por examinador.
- 2.2 Tempo máximo total de arguição: 3 horas para o mestrado e 5 horas para o doutorado.
 - 3. A sessão de defesa será aberta ao público.
- 4. Terminada a arguição por todos os membros da banca, a mesma se reunirá reservadamente e expressará na ata (relatório de defesa) a aprovação ou reprovação do candidato, baseando-se no trabalho escrito e na arguição.
- 4.1 Será considerado aprovado o aluno que obtiver aprovação por unanimidade ou pela maioria da banca.
- 4.2 Caso algum membro da banca reprove o candidato, a Comissão Julgadora deverá emitir um parecer a ser escrito em campo exclusivamente indicado na ata.
- 5. Dúvidas poderão ser esclarecidas junto à Secretaria de Pós-Graduação: pgfarma@usp.br, (11) 3091 3621.

São Paulo, 26 de maio de 2011.

Profa. Dra. Bernadette D. G. M. Franco Presidente da CPG/FCF/USP

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO



FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS Comitê de Ética em Pesquisa – CEP

Ofício CEP/FCF/124/2011

São Paulo, 26 de julho de 2011.

Ilmo(a). Sr(a). Profa. Dra. Silvia Maria Franciscato Cozzolino FBA

Prezado(a) Senhor(a),

O Comitê de Ética em Pesquisa da FCF/USP, em reunião realizada em 25 de julho de 2011, APROVOU o adendo ao projeto "Efeito da suplementação com castanha-do-brasil (Bertholetia excelsa H.B.K) como fonte de selênio sobre marcadores de estresse oxidativo, citocinas inflamatórias e sua relação com o polimorfismo Pro198Leu no gene da glutationa peroxidase 1 em pacientes com com artrite rematóide" conforme segue:

- Inclusão da participação, no projeto, da aluna Graziela Biude Silva;
- Inclusão das seguintes análises: determinação do estado nutricional relativo ao zinco; marcadores do estresse oxidativo MDA/SOD/SOD3; determinação do perfil lipídico; polimorfismo Arg213Gly no gene da SOD3.

Atenciosamente,

horiz fandare Profa. Dra. Mariza Landgraf

Coordenadora do Comitê de Ética em Pesquisa

FOF/USP



TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO - TCLE

Etapa I do projeto

1. Innomnagood ad Cajon	o da i ooquida			
Nome:				
Documento de Identidade	e nº:		Sexo: () M ()F
Data de Nascimento: /	/			
Endereço:		Ν°	Complemento:	
Bairro:	Cidade:			Estado:
CEP:	Telefones:			
Informações do Respo	onsável Legal			
Nome:				

Nome:			
Natureza (grau de parente	esco, tutor, curad	dor, etc.)	
Documento de Identidade	nº:		Sexo: ()M ()F
Data de Nascimento: / /			·
Endereço:		Nº	Complemento:
Bairro:	Cidade:		Estado:
CEP:	Telefones:		

3. Título do Projeto de Pesquisa:

Informações do Sujeito da Pesquisa

- "Efeito da suplementação com castanha-do-brasil (*Bertholetia excelsa H.B.K*) como fonte de Selênio sobre os marcadores de estresse oxidativo, citocinas inflamatórias e sua relação com o polimorfismo Pro198Leu no gene da glutationa peroxidase 1 em pacientes com artrite reumatóide"
- "Estado Nutricional relativo ao Zinco de pacientes com Artrite Reumatóide e sua relação com o Estresse Oxidativo e o Polimorfismo Arg213Gly presente no gene da SOD3"
- 4. Duração da Pesquisa: 3 meses
- 5. Nome do pesquisador responsável: Sílvia Maria Franciscato Cozzolino
 Cargo/ Função:Professor titular

 Nº do Registro do Conselho Regional: CRN 0621

Instituição: Faculdade de Ciências Farmacêuticas – Universidade de São Paulo (FCF-USP)

Convidamos o(a) Sr.(a) a participar das pesquisas, cujos títulos são "Efeito da suplementação com castanha-do-brasil (Bertholetia excelsa H.B.K) como fonte de Selênio sobre os marcadores de estresse oxidativo, citocinas inflamatórias e sua relação com o polimorfismo Pro198Leu no gene da glutationa peroxidase 1 em pacientes com artrite reumatóide" e "Estado Nutricional relativo ao Zinco de pacientes com Artrite Reumatóide e sua relação com o Estresse Oxidativo e o Polimorfismo Arg213Gly presente no gene da SOD3". Este estudo será conduzido pela Profa. e pesquisadora responsável, Silvia Maria Franciscato Cozzolino. Participarão como colaboradores deste projeto a aluna de doutorado da FCF-USP, Kátia Rau de Almeida Callou; a aluna de mestrado da FCF/USP, Graziela Biude Silva; o professor adjunto da Disciplina de Reumatologia da Universidade Federal de São Paulo e coordenador do setor de artrite reumatóide do Hospital São Paulo, Daniel Feldman Pollak e José Alexandre Pimentel, técnico da FCF-USP e responsável pela coleta de sangue. A sua participação terá duração estimada de três meses e esta pesquisa é considerada de risco mínimo.



TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO - TCLE

A artrite reumatóide é uma doença que causa bastante dor nas articulações do corpo (como às das mãos, pé, ombros, etc) e pode ainda levar a complicações nos ossos, dificultando a realização de atividades domésticas. Você deve seguir as orientações médicas e/ou de nutricionista para o controle de medicamentos e da alimentação. Entre os nutrientes mais importantes para o nosso organismo estão o selênio e o zinco. Estes minerais podem diminuir a inflamação, e são encontrados em alimentos como castanhas, nozes, carnes bovinas e carnes de aves.

Através dessa pesquisa será possível verificar as quantidades desses minerais no sangue dos participantes e se a alimentação está adequada. Ao final da pesquisa, os resultados serão entregues e os participantes serão orientados quanto à alimentação. Esta é a Etapa I do projeto, que será constituída de dois grupos: 1. Grupo caso (pacientes com artrite reumatóide diagnosticados segundo os critérios do colégio americano de reumatologia), 2. Grupo controle (constituído por indivíduos saudáveis). Cada grupo será constituído de 30 indivíduos.

Você será submetido a exames clínicos e laboratoriais, com coleta de sangue. No dia da coleta de sangue, você deverá vir em jejum de 12h. Serão realizadas duas coletas de sangue, sendo cada uma de 20 mL. A primeira coleta será feita no momento inicial do estudo e a segunda após três meses, a fim de verificar se alterações na dosagem ou no tipo do remédio utilizado irão interferir nos exames que faremos. No sangue, nós iremos avaliar a quantidade de selênio e zinco, e se há um desequilíbrio entre as substâncias boas e prejudiciais ao corpo (quantidade de selênio e zinco, quantidade de malondialdeído e atividade das enzimas antioxidantes glutationa peroxidase, superoxido dismutase e superoxido dismutase 3). Além disso, iremos avaliar nesta primeira etapa se esses resultados são influenciados pela sua característica individual (DNA – análise do polimorfismo Arg213Gly no gene da superoxido dismutase 3). Seu sangue não será armazenado para a realização de estudos futuros.

Um dia antes da primeira coleta de sangue, você deverá coletar e armazenar toda a urina de um dia inteiro em um frasco que será fornecido pelo pesquisador. Esse frasco deverá ser guardado na geladeira e entregue no mesmo dia da coleta de sangue. A urina será utilizada para avaliar a quantidade de zinco.

No mesmo dia da coleta de sangue, você deverá trazer preenchido o registro alimentar. Neste registro, você precisará anotar tudo o que comeu durante três dias não consecutivos de uma semana, sendo um dia de final de semana. Também serão feitas medidas de peso, altura e outra medida para avaliação da quantidade de gordura do seu corpo (bioimpedância elétrica).

O material utilizado para a coleta de sangue será descartável e a coleta será feita no setor de reumatologia da Universidade Federal de São Paulo, por um técnico especializado. Durante a coleta de sangue, você poderá sentir tonturas por estar em jejum e leve dor devido à picada da agulha. Poderá também surgir uma mancha um pouco arroxeada no local da picada. Você receberá um lanche, após a coleta, para diminuir esses desconfortos.

Em qualquer etapa do estudo, você poderá falar com os responsáveis pela pesquisa para ter informações sobre a mesma. Sua participação no estudo não acarretará custos ao participante e não será disponível nenhuma compensação financeira adicional, porém em caso de haver gastos com transporte e/ou alimentação, e você não puder pagar, poderá ser oferecida a quantia referente a estes gastos, com recursos próprios do pesquisador. Os resultados desta pesquisa serão divulgados apenas em revistas e congressos científicos, e o seu nome será mantido em segredo.Você poderá desistir do estudo a qualquer momento, sem nenhum constrangimento, e sem nenhum prejuízo à continuidade do seu tratamento.

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO - TCLE

Em caso de dúvidas, entrar em contato com:

Kátia Rau de Almeida Callou - (11) 8303-8881 /(11) 3091-3625

Email: katia.callou@usp.br

Graziela Biude Silva - (11) 8288-1473 / (11) 3091-3625

E-mail: gbiude@usp.br

End: Av. Prof. Lineu Prestes, 580 - Bloco 14 05508-900 São Paulo SP

Declaro que, após convenientemente esclarecido foi explicado, consinto em participar do presente P	
São Paulo, de	de
Assinatura do sujeito de pesquisa/responsável	Assinatura do pesquisador responsável Prof. Sílvia Maria F. 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"

03/11/13 Currículo Lattes





Graziela Biude Silva

Endereço para acessar este CV:http://lattes.cnpq.br/0518830668250813

Última atualização do currículo em 03/11/2013

Resumo informado pelo autor

Possui graduação em Nutrição pelo Centro Universitário São Camilo (2010); Mestranda em Ciências dos Alimentos, na área de Nutrição Experimental, pela Faculdade de Ciências Farmacêuticas - USP; Atua na área de Nutrição com ênfase em Análise de Selênio em Alimentos, Avaliação do Estado Nutricional de Populações (zinco, estresse oxidativo, artrite reumatóide), Bioquimica da Nutrição e Nutrigenomica.

(Texto informado pelo autor)

Dados pessoais

Nome Graziela Biude Silva

Nome em citações SILVA, G.B.

bibliográficas

Sexo Feminino

Cor ou Raça Branca

Filiação Salvador Ferreira da Silva e Claudia Fatima Biude da Silva

Nascimento 16/10/1987 - Guarulhos/SP - Brasil

Carteira de Identidade 343024834 86009 - SP - 07/10/2008

CPF 368,172,658-27

Endereço residencial Rua São Vicente

Gopoúva - Guarulhos 07020-280, SP - Brasil Telefone: 011 82881473

Endereço profissional Universidade de São Paulo, Faculdade de Ciências Farmacêuticas Av. Prof. Lineu Prestes, 580 - Bloco 14

Butatã - Sao Paulo 05508-900. SP - Brasil Telefone: 11 30913625

Endereço eletrônico

E-mail para contato : graziela.biude@gmail.com e-mail alternativo : gbiude@usp.br

Formação acadêmica/titulação

Mestrado em Ciências dos Alimentos

Universidade de São Paulo, USP, Sao Paulo, Brasil Título: ESTADO NUTRICIONAL RELATIVO AO ZÍNCO DE PACIENTES COM ARTRITE REUMATÓIDE E SUA RELAÇÃO COM O ESTRESSE OXIDATIVO E O POLIMORFISMO ARG213GLY NO GENE DA SUPEROXIDO

DISMUTASE 3

Orientador: Silvia Maria Franciscato Cozzolino

Bolsista do(a): Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nivel Superior Palavras-chave: Zinco, estado nutricional, Artrite Reumatóide

Áreas do conhecimento : Análise Nutricional de População, Bioquímica da Nutrição

2007 - 2010

Graduação em Nutrição. Centro Universitário São Camilo, CUSC, Sao Paulo, Brasil

Formação complementar

2013 - 2013 Genotipagem de SNPs

Life Tecnologies , LIFE TEC, Sao Paulo, Brasil

2013 - 2013 Quantificação da Expressão Gênica. Life Tecnologies , LIFE TEC, Sao Paulo, Brasil

2012 - 2012 Aplicações e Fundamentos da PCR em Tempo Real. Life Tecnologies , LIFE TEC, Sao Paulo, Brasil

2012 - 2012 Curso de curta duração em Estatistica Aplicada à Nutrição.

Sociedade Brasileira de Alimentação e Nutrição, SBAN, Sao Paulo, Brasil

2009 - 2009 Extensão universitária em Nutrição esportiva.

Associação paulista de nutrição, APAN, Brasil Palavras-chave: suplementação, esporte

2008 - 2008 Extensão universitária em Fisiologia do exercicio.

Centro Universitário São Camilo, CUSC, Sao Paulo, Brasil

2007 - 2007 Extensão universitária em enogastronomia. Centro Universitário São Camilo, CUSC, Sao Paulo, Brasil Palavras-chave: vinho, gastronomia

Atuação profissional

1. Universidade de São Paulo - USP

Vinculo institucional

2010 - Atual Vínculo: Pós - Graduação , Enquadramento funcional: Mestranda, Regime: Dedicação exclusiva

2008 - 2010 Vínculo: Iniciação Cientifica , Enquadramento funcional: Aluna Iniciação Cientifica , Carga horária: 20,

Regime: Dedicação exclusiva

2. Centro Universitário São Camilo - CUSC

Vínculo institucional

2007 - 2010 Vínculo: Estudante , Enquadramento funcional: estudante, Regime: Parcia

Atividades

10/2010 - 12/2010 Estágio, Viver Casa e Gourmet - ARNO

Estágio:

Estágio realizado na área de Instituições Diferenciadas - Marketing/Gestão de Negócios sob orientação

da docente Prof. Luciana da Silva Garcia

07/2010 - 09/2010 Estágio, Instituto de Pesquisas Tecnológicas do Estado de São Paulo - IPT

Estágio.

Estágio realizado na área de Alimentação Institucional sob orientação da docente Prof. Hebe M. Varejão

04/2010 - 06/2010 Estágio, Instituto de Pesquisas Tecnológicas do Estado de São Paulo - IPT

Estágio.

Estágio realizado na ára de Saúde Coletiva sob orientação da docente Prof. Claudia C. Farhud

01/2010 - 03/2010 Estágio, Sociedade Beneficente Alemã - SBA

Estágio

Estágio realizado na área de Nutrição Clinica sob orientação da docente Prof. Vera Silvia Frangella

Áreas de atuação

- 1. Nutricão
- 2. Análise Nutricional de População
- 3. Bioquímica da Nutrição

Projetos

Projetos de pesquisa

2011 - Atual Estado nutricional relativo ao zinco de pacientes com artrite reumatóide e sua relação com o estresse oxidativo e o polimorfismo Arg213Gli no gene da SOD3.

> Descrição: Estudos mostram que há um aumento do estresse oxidativo nos pacientes com artrite reumatóide. O zinco é um micronutriente essencial à saúde humana desempenhando papel importante na inflamação, através da proteína zinc finger A20 e também como antioxidante através da enzima superóxido dismutase. A superóxido dismutase é considerada a primeira linha de defesa antioxidante. Dentre as isoformas, a SOD3 ou EC-SOD, é a principal isoenzima no fluido sinovial. A presença do alelo variante do polimorfismo Arg213Gly no gene da SOD3 resulta em um prejuízo na ligação da enzima com a heparina, reduzido a atividade antioxidante na parede vascular, diminuindo a proteção antioxidante no vaso. Acreditase que possa existir uma associação entre o estresse oxidativo, a presença do polimorfismo e a susceptibilidade para doenças cardiovasculares. Portanto, o estudo tem como objetivo avaliar o estado nutricional relativo ao zinco de pacientes com artrite reumatóide e sua relação com o estresse oxidativo e o

polimorfismo Arg213Gly no gene da SOD3. Situação: Em andamento Natureza: Projetos de pesquisa

Alunos envolvidos: Mestrado académico (1); Doutorado (1); Integrantes: Graziela Biude Silva; Kátia Rau de Almeida Callou; Silvia Maria Franciscato Cozzolino (Responsável)

Financiador(es): Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior-CAPES, Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo-FAPESP

2009 - 2010 Determinação de Selenio e da Composição Centesimal de Alimentos Comercializados na Cidade de São Paulo

> Descrição: A concentração de selênio nos alimentos produzidos no Brasil ainda tem seus dados escassos em nossa literatura. Este elemento tem grande importância à saúde humana, pois é necessário para a síntese da enzima glutationa peroxidase e tem-se sugerido uma ação anticarcinogênica. Atua também no sistema imunológico, no metabolismo dos hormônios da tireóide e na síntese de metionina a partir da homocisteína. Sua distribuição na natureza apresenta variações em diferentes áreas do país, influenciando nos teores de selênio nos solos e conseqüentemente nos alimentos. Portanto, a composição dos alimentos estabelece um conhecimento básico sobre a prescrição dietética do consumo de selênio, bem como uma avaljação dos níveis de adequação. A ausência de dados referentes à concentração deste mineral é um fator limitante na verificação do consumo alimentar na população brasileira.

Situação: Concluído Natureza: Projetos de pesquisa Alunos envolvidos: Graduação (2); Doutorado (1);

Integrantes: Graziela Biude Silva; Daniela Bonini Nagao; Liliane Viana Pires; José Alexandre Coelho Pimentel;

03/11/13 Currículo Lattes

> Silvia Maria Franciscato Cozzolino (Responsável) Financiador(es): Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico-CNPa

Idiomas

Inglês Compreende Bem , Faja Bem , Escreve Bem , Lê Bem

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

Producão

Producão bibliográfica

Capítulos de livros publicados

1. SILVA, G.B., ALMEIDA, I. S., SANTOS, L. B., COZZOLÍNO, S.M.F. Biotina In: Bases Bioquimicas e Fisiológicas da Nutrição: Nas diferentes fases da vida, na saúde e na doença.1 ed.Barueri: Manole, 2013, v.1, p. 571-592.

Referências adicionais : Brasil/Português. Meio de divulgação: Impresso, ISBN: 9788520431771

2. SILVA, G.B., ALMEIDA, I. S., SANTOS, L. B., COZZOLINO, S.M.F.

Colina In: Bases Bioquimicas e Fisiológicas da Nutrição: Nas diferentes fases da vida, na saúde e na doença.1 ed.Barueri: Manole, 2013, v.1, p. 558-570.

Referências adicionais : Brasil/Português. Meio de divulgação: Impresso, ISBN: 9788520431771

CALLOU, K.R.A., SILVA, G.B., ALMEIDA, I. S., SANTOS, L. B., COZZOLINO, S.M.F. Hementos-traço In: Bases Bioquimicas e Fisiológicas da Nutrição: Nas diferentes fases da vida, na saúde e na doença.1 ed.Barueri : Manole, 2013, v.1, p. 354-390. Referências adicionais : Brasil/Português. Meio de divulgação: Impresso, ISBN: 9788520431771

Apresentação de trabalho e palestra

1. CALLOU, K.R.A., SILVA, G.B., POLLAK, D. F., COZZOLINO. S.M.F.

Evaluation of mineral status in rheumatoid arthritis patients, 2013. (Congresso, Apresentação de Trabalho)

Referências adicionais : Espanha/Inglês. Meio de divulgação: Meio digital. Home page. http://icn2013.com/; Local: Granada Congress Centre Paseo Violon, S/N 18006; Cidade: Granada; Evento: IUNS 20th International Congress of Nutrition

2. SILVA, G.B., CALLOU, K.R.A., ALMEIDA, I.S., SANTOS, L.B., POLLAK, D.F., COZZOLINO, S.M.F. Zinc nutritional status and enzymes antioxidant activity in patients with rheumatoid arthritis. 2013. (Congresso, Apresentação de Trabalho)

Referências adicionais : França/Inglês. Meio de divulgação: Impresso. Home page http://www.festem.eu/festem/congresses/symposium-home/index.html; Local: Avignon Grand Hotel; Cidade: Avignon; Evento: 5th International FESTEM Symposium on Trace Elements and Minerals

3. REIS, B. Z., SILVA, G.B., ALMEIDA, I. S., COZZOLINO, S.M.F.

Arg213Gly Polymorphism in EC-SOD gene and its relationship to cardiovascular disease., 2012.(Congresso, Apresentação de Trabalho)

Referências adicionais : Brasil/Inglês. Meio de divulgação: Outro; Local: Centro de Convenção Rebouças; Cidade: São Paulo; Evento: 6º Congresso da Sociedade Internacional de Nutrigenômica/Nutrigenética; Inst.promotora/financiadora: Sociedade Internacional de Nutrigenômica/Nutrigenética

ALMONDES, K. G. S., PIRES, L.V., Veronica Silva Bandeira, Leila Hashimoto, Luciane Luca de Alencar, SILVA, G.B., CALLOU, K.R.A., PIMENTEL, J.A.C., Rafael Barofaldi Bueno, COZZOLINO, S.M.F Avaliação do estado nutricional relativo ao selênio, de enzimas antioxidantes e do dano ao DNA em pacientes no pós tratamento da leucemia linfóide aguda, 2012. (Outra, Apresentação de

Trabalho)
Referências adicionais : Brasil/Português. Meio de divulgação: Outro; Local: SERHS Natal Grand Hotel; Cidade: Natal; Evento: Encontro SBAN: Nutrição Clinica; Inst.promotora/financiadora: Sociedade Brasileira de Alimentação e Nutrição

SANTOS, L. B., ALMEIDA, I. S., MAIA, C. S. C., BARROSO, C. F., SILVA, G.B., COZZOLINO, S.M.F. Plasma selenium concentration of a population from a rich selenium brazilian area., 2012. (Congresso,Apresentação de Trabalho) Referências adicionais : Cuba/Inglês. Meio de divulgação: Outro; Local: Palacio de Convenções de

Havana; Cidade: Havana; Evento: XVI Congresso Latinoamericano de Nutrição (SLAN); Inst.promotora/financiadora: Sociedade Latinoamericana de Nutrição

- CARDOSO, B.R., CALLOU, K.R.A., PIRES, L.V., COMINNET, C., SILVA, G.B., COZZOLINO, S.M.F. Determinação do teor de selênio e avaliação da composição centesimal de amostras de castanha do Brasil (Bertholetia Excelsa H.B.K.), 2011. (Congresso, Apresentação de Trabalho) Referências adicionais : Brasil/Português. Meio de divulgação: Outro; Local: Fortaleza-CE; Evento: 11º Congresso Nacional - SBAN; Inst.promotora/financiadora: Sociedade Brasileira de Alimentação e Nutrição
- SILVA, G.B., NAGAO, D. B., COZZOLINO, S.M.F.

Determinação de Selênio e da Composição Centesimal de alimenros comercializados na cidade de São Paulo, 2010. (Simpósio, Apresentação de Trabalho)

Palavras-chave: Alimentos, Selênio, Composição de Alimentos Áreas do conhecimento : Nutrição,Bioquímica da Nutrição,Análise Nutricional de População Referências adicionais : Brasil/Português. Meio de divulgação: Outro; Local: Centro de Conferencias de Ribeirão Preto; Cidade: Ribeirão Preto/SP; Evento: 18º Simpósio de Iniciação Científica da Universidade de São Paulo - SIICUSP; Inst.promotora/financiadora: Universidade de São Paulo

8. 😭 SILVA, G.B., NAGAO, D. B., PIRES, L.V., PIMENTEL, J.A.C., CALLOU, K.R.A., COZZOLINO, S.M.F. Selenium Concentration in polished and parboiled rice traded in São Paulo's retail market, 2010. (Simpósio, Apresentação de Trabalho) Palavras-chave: Selênio, Alimentos, Composição de Alimentos

Áreas do conhecimento : Nutrição,Análise Nutricional de População,Bioquímica da Nutrição Referências adicionais : Brasil/Inglês. Meio de divulgação: Outro; Evento: XV Semana Farmacêutica de Ciência e Tecnologia; Inst.promotora/financiadora: Faculdade de Ciências Farmcêuticas/USP

9. SILVA, G.B., NAGAO, D. B., PIRES, L.V., PIMENTEL, J.A.C., CALLOU, K.R.A., COZZOLINO, S.M.F. Selenium concentration in soluble coffee and ground coffee powder in São Paulo's retail market, 2010. (Simpósio, Apresentação de Trabalho) Palavras-chave: Selênio, Alimentos, Composição de Alimentos

Áreas do conhecimento : Nutrição,Análise Nutricional de População,Bioquímica da Nutrição Referências adicionais : Brasil/Inglês. Meio de divulgação: Outro; Evento: XV Semana Farmacêutica de

03/11/13 Currículo Lattes

Ciência e Tecnologia; Inst.promotora/financiadora: Faculdade de Ciências Farmecêuticas/USP

10. SILVA, G.B. ARROYO, J., Brazão, P.L., BURGUEIRA, M.A., MINAMI, F., PASSADORE, M.D., FREIBERG,

Avaliação Antropométrica e do Estado Nutricional de Policiais Militares do 16ºBatalhão da Policia Militar da cidade de São Paulo, 2009. (Outra,Apresentação de Trabalho)

Palavras-chave: ANTROPOMETRIA, estado nutricional

Áreas do conhecimento : Nutrição,Análise Nutricional de População,Avaliação Nutricional Referências adicionais : Brasil/Português. Meio de divulgação: Vários; Local: Av. Nazaré, 1501; Cidade:

São Paulo: Evento: XIII Jornada Científica do Centro Universitário São Camilo:

Inst.promotora/financiadora: Centro Universitário São Camilo

Eventos

Eventos

Participação em eventos

- Apresentação de Poster / Painel no(a) 5th International FESTEM Symposium on Trace Elements and Minerals, 2013. (Simpósio)
 ZINC NUTRITIONAL STATUS AND ENZYMES ANTIOXIDANT ACTIVITY IN PATIENTS WITH RHEUMATOID ARTHRITIS.
- Apresentação de Poster / Painel no(a) 6º Congresso da Sociedade Internacional de Nutrigenômica/Nutrigenética, 2012. (Congresso)
 Arg213Gly Polymorphism in EC-SOD gene and its relationship to cardiovascular disease.
- 3. Encontro SBAN: Nutrição Clinica, 2012. (Encontro)
- 4. Apresentação de Poster / Painel no(a) 18º Simpósio de Iniciação Científica da Universidade de São Paulo SIICUSP, 2010. (Simpósio)
 Determinação de Selênio e da Composição Centesimal de Alimentos Comercializados na cidade de São Paulo.
- Apresentação de Poster / Painel no(a) XV Semana Farmacêutica de Ciência e Tecnologia, 2010. (Simpósio)

Selenium concentration in polished and parboiled rice traded in São Paulo's retail market.

- 6. XIV Congresso Brasileiro de Nutrologia ABRAN, 2010. (Congresso)
- 7. Interpretação de Exames Laboratoriais IMEN Educação, 2010. (Simpósio)
- 8. Apresentação Oral no(a) XIII Jornada Científica do Centro Universitário São Camilo, 2009. (Outra) Avaliação Antropométrica e do Estado Nutricional de Policiais Militares do 16º Batalhão da Policia Militar da cidade de São Paulo.
- 9. Workshop Latino- Americano: Ações e Oportunidades na Área de Fortificação de Alimentos ILSI, 2009. (Outra)
- 10º Congresso Nacional da Sociedade Brasileira de Alimentação e Nutrição SBAN, 2009. (Congresso)
- SIMPONUTRI Mesa Redonda Gerontologia: Relato de Experiências Alunas do Centro de Humanização de Madrid, 2009. (Simpósio)
- 12. SIMPONUTRI Mesa Redonda: Adoçantes Mitos a serem desvendados/ Nutrição Funcional na Consulta Clinica, 2009. (Simpósio)
- 13. Atualidades em Nutrição Esportiva APAN, 2009. (Outra)
- 14. CONNUT Congresso de Nutrição e Tecnologia, 2008. (Congresso)
- 15. Alimento Saudável e Seguro: Uma Questão de Vida ou Morte, 2008. (Seminário)
- 16. Conferencista no(a) Neuroendocrinologia da ingestão do Alimento, 2007. (Seminário) Neuroendocrinologia da ingestão do Alimento.

Totais de produção

Produção bibliográfica

Capítulos de livros publicados	3
Apresentações de trabalhos (Congresso)	5
Apresentações de trabalhos (Simpósio)	3
Apresentações de trabalhos (Outra)	2

Eventos

Participações em eventos (congresso)	4
Participações em eventos (seminário)	2
Participações em eventos (simpósio)	6

03/11/13 Currículo Lattes

Participações em eventos (encontro)		1
Participações em eventos (outra)		3
Página gerada pelo sistema Curi	ículo Lattes em 03/11/2013 às 19:40:28.	

31/10/13 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 - 6942176/2 - Graziela Biude Silva

Email: gbiude@usp.br

Data de Nascimento: 16/10/1987

Cédula de Identidade:RG - 343024834 - SPLocal de Nascimento:Estado de São Paulo

Nacionalidade: Brasileira

Graduação: Nutricionista - Centro Universitário São Camilo - São Paulo - Brasil - 2010

Curso: Mestrado

Programa:Ciência dos AlimentosÁrea:Nutrição Experimental

Data de Matrícula:10/06/2011Início da Contagem de Prazo:10/06/2011Data Limite para o Depósito:10/12/2013

Orientador: Prof(a). Dr(a). Thomas Prates Ong - 10/06/2011 a 19/10/2011 E.Mail:

tong@usp.br

Orientador: Prof(a). Dr(a). Silvia Maria Franciscato Cozzolino - 20/10/2011 até o presente.

E.Mail: smfcozzo@usp.br

Proficiência em Línguas: Inglês, Aprovado em 10/06/2011

Data de Aprovação no Exame de

Qualificação:

Aprovado em 28/08/2012

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 10/06/2011

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: 31/10/13 19:54:10

31/10/13 Ficha do Aluno

Fanus - Sistema Administrativo da Pós-Graduação



Universidade de São Paulo Faculdade de Ciências Farmacêuticas

Documento sem validade oficial

FICHA DO ALUNO

9132 - 6942176/2 - Graziela Biude Silva

Sigla	Nome da Disciplina	Início	Término	Carga Horária	Cred.	Freq.	Conc.	Exc.	Situação
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	92	Α	N	Concluída
FBA5728- 3/3	Aprimoramento Didático	12/09/2011	09/10/2011	60	0	0	-	N	Pré- matrícula indeferida
HNT5759- 1/2	Nutrigenômica no Contexto das Doenças Crônicas não Transmissíveis (Faculdade de Saúde Pública - Universidade de São Paulo)	04/10/2011	08/11/2011	60	4	87	Α	N	Concluída
ICB5711- 2/1	Redação de Trabalhos Científicos (Instituto de Ciências Biomédicas - Universidade de São Paulo)		08/12/2011	45	3	100	Α	N	Concluída
HEP5800- 3/1	Bioestatística (Faculdade de Saúde Pública - Universidade de São Paulo)	01/03/2012	10/05/2012	90	0	0	-	N	Pré- matrícula indeferida
FBA5899- 2/2	Biodisponibilidade de Nutrientes e de Substâncias Bioativas em Alimentos e Dietas	05/03/2012	15/04/2012	90	6	90	Α	N	Concluída
FBA5728- 3/5	Aprimoramento Didático	06/03/2012	02/04/2012	60	0	0	_	N	Matrícula cancelada
EDM5791- 5/8	Metodologia do Ensino Superior (Faculdade de Educação - Universidade de São Paulo)	14/03/2012	29/06/2012	120	8	83,3	Α	N	Concluída
	Cré	ditos mír	nimos exi	aidos			Cré	ditos	obtidos
	Para eyame de qua				a dice	ortacã			

	Créditos míni	Créditos mínimos exigidos				
	Para exame de qualificação	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: 31/10/13 19:54:10