



UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS - UFAL
INSTITUTO DE QUÍMICA E BIOTECNOLOGIA – IQB



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA E BIOTECNOLOGIA – PPGQB

LABORATÓRIO DE ELETROQUÍMICA

**ANÁLISE DE BIOMARCADORES DE BALANÇO REDOX EM
PORTADORES DE HIPERTENSÃO ARTERIAL PRIMÁRIA:
UMA AVALIAÇÃO SEGUNDO TÉCNICAS BIOQUÍMICAS,
CROMATOGRÁFICAS E ESPECTROFOTOMÉTRICAS**

Sandra Mary Lima Vasconcelos

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química e Biotecnologia do Instituto de Química e Biotecnologia da Universidade Federal de Alagoas, para obtenção do título de Doutor em Ciências.

Orientadora: Prof^a Dr^a Marília Oliveira Fonseca Goulart

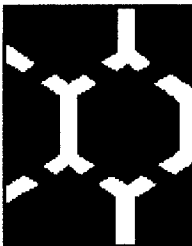
Co-orientadora: Prof^a Dr^a Maria Alayde Mendonça da Silva

*Maceió – Alagoas
Agosto de 2006*

Catálogo na fonte
Universidade Federal de Alagoas
Biblioteca Central
Divisão de Tratamento Técnico
Bibliotecária Responsável: Helena Cristina Pimentel do Vale

- V331a Vasconcelos, Sandra Mary Lima.
Análise de biomarcadores de balanço redox em portadores de hipertensão arterial primária : uma avaliação segundo técnicas bioquímicas, cromatográficas e espectrofotométricas / Sandra Mary Lima Vasconcelos. – Maceió, 2006.
xvi, 162 f. : il. tabs., graf.
- Orientadora: Marília Oliveira Fonseca Goulart.
Co-Orientadora: Maria Alayde Mendonça da Silva.
Tese (doutorado em Química e Biotecnologia) – Universidade Federal de Alagoas. Instituto de Química e Biotecnologia. Maceió, 2006.
- Bibliografia: f. 133-162.
Inclui apêndices e anexos.
1. Hipertensão arterial sistêmica. 2. Biomarcadores. 3. Balanço redox.
4. Espectrofotometria. 5. Antioxidantes. 6. Nutrição humana. 7. Dieta. I. Título.

CDU: 54:612.3/613.2



UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS
INSTITUTO DE QUÍMICA E BIOTECNOLOGIA - IQB
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA E
BIOTECNOLOGIA – PPGQB

Campus A. C. Simões
Cidade Universitária
57072-970 - Maceió-AL
Brasil
Tel. (082) 3214 – 1384
Fax. (082) 3214 –1384

Sandra Mary Lima Vasconcelos

**ANÁLISE DE BIOMARCADORES DE BALANÇO REDOX EM
PORTADORES DE HIPERTENSÃO ARTERIAL PRIMÁRIA:
UMA AVALIAÇÃO SEGUNDO TÉCNICAS BIOQUÍMICAS,
CROMATOGRÁFICAS E ESPECTROFOTOMÉTRICAS**

BANCA EXAMINADORA

Profª Drª Marília Oliveira Fonseca Goulart
(Orientadora – Presidente) IQB/UFAL

Profª Drª Maria Alayde Mendonça da Silva
(Co-orientadora) IQB/UFAL

Prof Dr Etelvino José Henriques Bechara
IQ/USP

Profª Drª Ana Maria Pita Lottenberg
Faculdade de Medicina/ USP

Profª Dr Gilberto Fontes
ICBS/UFAL

Profª Drª Telma Maria de Menezes Toledo Florêncio
FANUT/UFAL

Profª Drª Suzana Lima de Oliveira
FANUT/UFAL

DEDICATÓRIA

Ao meu Paião, José Azevêdo Vasconcelos (“Zequinha”), *in memoriam*,
o meu irmão Rogério Lima Vasconcelos (“Grinho”), *in memoriam*,
minha filha, Ana Maria Vasconcelos (“Inha”),
o meu marido Arestides Porangaba (“Arizinho”),
Profa Dra Marília Oliveira Fonseca Goulart,

Dedico este trabalho a vocês, para compartilhar o crescimento científico e profissional e a intensa experiência do convívio com a pessoa humana, sob as mais diversas circunstâncias, que este trabalho me proporcionou. Um trabalho generoso para pessoas generosas.

AS INSTITUIÇÕES FINANCEIRAS

Este trabalho contou com o apoio financeiro das seguintes instituições:

PPSUS/CNPq/FAPEAL/SESAU, FAPEAL, CAPES, CNPq, PADCT.

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

Ao meu núcleo familiar, minha filha Aninha, meu marido Arizinho e Maiñha Ismênia.

Obrigada pela cumplicidade, pela paciência e pelo aconchego, que me mantiveram firme, forte e determinada diante das dificuldades e limitações, e tornaram as realizações belos momentos inesquecíveis de felicidade compartilhada.

À minha orientadora Prof^a. Dra Marília Oliveira Fonseca Goulart.

Grande incentivadora e participe desde quando era uma idéia; grande mestra nos momentos densos de sua realização; exemplo de orientadora e pesquisadora; presença marcante até sua conclusão.

A você Prof^a. Marília, meu carinho, meu respeito, minha admiração e a feliz responsabilidade de “cultivá-la”.

Aos voluntários que participaram deste estudo.

Minha gratidão pela colaboração à ciência, mas, sobretudo pela entrega e confiança em mim depositada. A vocês o meu respeito e a satisfação do cuidar, com ética.

AGRADECIMENTOS

Aos professores do Laboratório de Eletroquímica, Prof. Dr. Josealdo Tonholo, Prof^ª. Dr^ª. Carmem Zanta, Prof^ª. Dr^ª. Fabiane Caxico de Abreu, Prof. Nivaldo Soares, e às pesquisadoras Alessandra Cioletti e Adriana Ribeiro, pelos ensinamentos e pela acolhida, particularmente ao Prof. Tonholo, que teve uma participação fundamental no meu ingresso no CPGQB.

Aos demais Prof do IQB, em destaque ao Prof Dr. Euzébio de Goulart Sant'Anna e ao Prof Dr. Carlos Alberto Simone que participaram de perto deste estudo.

Aos colegas do laboratório Aline Fidélis, Danielle Cristhina Melo, Francine de Paula, Natália Velasquez, Acácia Melo, Antônio Albuquerque, José Rui Reys, Phabyanno Rodrigues, Marcos Sá, Sandra Rodrigues, Aristides Rodrigues, Paulo Rogério Barbosa, Cícero de Oliveira, Silvia Uchôa, Amaro Carlos, Almir Mirapalheta, José Ginaldo Júnior, enfim a todos que fazem o Laboratório de Eletroquímica, obrigada pelo convívio, pela receptividade, pelos muitos momentos de aprendizado.

Aos colegas de outros laboratórios do IQB: Fátima, Valdiléia, Márcio, Patrícia, Sebastião, Lisete, Jonathan, Milza, José Carlos e minha colega nutricionista, Emília, entre tantos outros, que juntos estudamos e dividimos planos e experiências cotidianas.

À minha co-orientadora, Cardiologista Prof^ª. Dr^ª. Maria Alayde Mendonça da Silva, pelos ensinamentos e pela participação na avaliação clínica dos pacientes.

Às ex-alunas do curso de nutrição Alane Cabral, Évila Vieira, Fabiana Accioly, Marcella Moreira, Nailza Vítor da Rocha, Adriana Paffer, Cristhiane Omena, Gabriela Costa e Thaísa Carla, agora, colegas nutricionistas, pelo grande aprendizado na avaliação nutricional dietética e antropométrica dos 500 pacientes estudados e pelas sinceras amizades surgidas do nosso rico convívio. Em destaque Alane Cabral, Nailza Vítor e Cristhiane Omena, pela colaboração no banco de dados deste trabalho. A todas, o meu carinho.

A Toda a equipe de Flexeiras:

À Prefeita Dr^ª. Arlene Cavalcante, ao Sec. Esporte e Lazer Marco Antônio Cavalcante, à Sec. Saúde Enf^ª. M^ª. do Socorro Medeiros, às Coord. da Vig. Epidemiológica Ana Cristina Calheiros de Melo e Vig. Sanitária Lúcia Cavalcante, à Odontol. Rosidete Tenório e à Solange Narciso; às Diretoras do Hospital Marlene Lins e Maria Cristina Aguiar; à Enf^ª Adriana Melo e ao Márcio Cavalcante. Às equipes dos PSFs, em particular às Enf^{ªs}. M^ª. das Graças Costa, M^ª. da Glória Nogueira e Raimunda Vítor, as Aux. de Enf. Maria Sorriso, Helena, Alaíde, Maria do Ó, aos Agentes de Saúde, Flávio, Melque, Arlete, Quitéria ("pequena"), Taciana, Rosivânia e Mônica (em especial); aos Motoristas Sr. Zeca e Sr. Genivaldo; à equipe do laboratório Bioq. Valquíria, Michelle e Patrícia e, em especial a Valdenice Salu (Nicina). A participação de todos foi fundamental para as etapas de seleção e coleta de dados junto às pessoas estudadas.

À diretora do LACEN, Dr^ª. Telma Pinheiro, ao Djalma e Avelina, pela viabilização dos exames dos 500 pacientes estudados, na etapa de seleção.

Aos voluntários do grupo "controle 2", cujos dados serão apresentados e discutidos em estudo posterior.

À Diretora do HEMOAL Maria da Piedade Bordalo, e, ao Biólogo Márcio Lins Galdino, responsável técnico pelo Lab. Imunogenética do HEMOAL, pelas orientações para os procedimentos de armazenamento e transporte das amostras.

À Prof^ª. Dr^ª. Mara da Silveira Benfato, doutoranda Vanusa Manfredini, às bolsistas de iniciação científica Luiza e Isabel do laboratório de estresse oxidativo (LEO) do Dept^º. de Biofísica da UFRGS, pela experiência que me proporcionaram com a colaboração para realização das análises espectrofotométricas.

À Prof^ª. Dr^ª. M^a do Carmo Roaro Peralba, Dept^º. de Química da UFRGS e ao doutorando João Vieira, pelo apoio sistemático durante as análises em HPLC.

Às colegas nutricionistas, Prof^{ªs} Jaine Maria Vieira e Kally, Dept^º. de Nutrição da UFRGS, pela acolhida e encorajamento no enfrentamento das experiências desafiadoras vivenciadas.

A Toda a equipe do laboratório do HU –UFAL:

A Dr^ª. Eliana Wanderley Santa Rita, ao bioquímico Dr. José Benedito de França Moura (em especial), aos técnicos de laboratório Silvana Maria de Araújo, Carlos Alberto da Silva, Maria das Candeias (Mariinha); à Maria Marluce Costa Nogueira, Jane Aldelya Ribeiro, e a toda a equipe do setor de Hematologia.

Ao bioquímico do laboratório HU/UFAL, Dr. José Benedito de França Moura, pelos ensinamentos teóricos e práticos, durante todo o processo de coleta, análise e subsequente tratamento dos dados bioquímicos.

À Mônica Matias e Valdenice Nascimento Salu (Nicinha), pela grande presteza e colaboração ao longo de todo o processo de seleção e coleta. Obrigada pela sincera disponibilidade e pelas agradáveis companhias em momentos de expectativa, me dando a segurança de que “tudo daria certo”.

Aos Prof^{ªs}. Dr^{ªs}. Gilberto Fontes, Maria Alice Araújo de Oliveira e Paulo Vanderlei Ferreira, além de Jairo Calado (UFAL); a Prof^ª. Dr^ª. Cristina Raposo e Edmilson Batista (UFPE), pelas orientações no tratamento estatístico.

Ao diretor do DSG-UFAL, Manoel Messias de Lima Filho.

Ao diretor do HU-UFAL, Dr Paulo Teixeira, pelo apoio na apresentação dos resultados e confraternização com os voluntários e colaboradores desta pesquisa, realizados no HU.

À Profa Marlete dos Santos Bezerra, pelo sempre carinhoso incentivo.

À Vaninha, ao Robson Nogueira e toda a equipe do Serviço de Prontuário do HU.

Ao Sr Luis Carlos da Utensilab, pela gentileza em ceder o espectrofotômetro.

Às Prof^{ªs}. Sandra Patrícia Crispim e Sylvia Franceschini, Dept^º. de Nutrição da UFV. Especialmente à Sylvia, pela orientação na tabulação e análise dos dados dos inquéritos dietéticos.

Aos Professores, membros da minha banca de qualificação:

Ao Prof. Dr. Etelvino Bechara, Prof^a. Dr^a. Suzana Oliveira, Prof^a. Dr^a. Telma Toledo, Prof^a. Dr^a. Maria Alice Oliveira, Prof. Dr. Gilberto Fontes e Prof^a. Dr^a. Márcia Pletz, que discutiram com afinco e dedicação aspectos fundamentais deste trabalho, contribuindo para o seu enriquecimento. Neste sentido, um destaque ao Prof Etelvino, que trouxe relevantes ensinamentos e deixa um exemplo de professor.

Ao Marcos Jorge Sá, pela dedicação na formatação do trabalho.

Aos colegas nutricionistas Kátia Betina Rios, Quitéria Pinto, Rackel Cavalcante, Denize Verçosa, Emília Maria Wanderley de Gusmão, que participaram de perto deste estudo, entre tantas outras que torceram pelo seu êxito.

Aos colegas Prof^s da Faculdade de Nutrição da UFAL, em destaque Sylvana Barros Luz, Célia Dias, Inês Tenório, além de Alice, Marlete, Suzana e Telma já citadas; aos funcionários Clarissa de Sá e Vivaldo Soares; à aluna Katherine Veras.

Ao Richard Brum, pela agilidade e presteza na tradução.

A todos enfim, que contribuíram direta ou indiretamente para a realização deste trabalho ao longo destes últimos quatro anos.

“Põe o quanto tu és no mínimo que tu fazes”
Fernando Pessoa

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	v
LISTA DE TABELAS	vii
LISTA DE ANEXOS	ix
LISTA DE APÊNDICES	ix
LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS	xi
RESUMO	xv
ABSTRACT	xvi
Capítulo 1- INTRODUÇÃO	1
1.1. Conceito e epidemiologia da Hipertensão arterial sistêmica (HAS)	2
1.2. Etiopatogenia da HAS: Bases para a hipótese oxidativa da HAS	3
1.3. Considerações gerais sobre estresse oxidativo e balanço redox	4
1.3.1 O estresse oxidativo	7
1.3.2 Ação das espécies reativas sobre macromoléculas	8
1.4. Hipótese oxidativa da HAS	18
1.5 Biomarcadores do balanço redox em sangue: Métodos gerais de análise e quantificação.	25
1.5.1 Enzimas anti-oxidantes	28
1.5.1.1 Superóxido dismutase (SOD)	28
1.5.1.2 Catalase (CAT)	29
1.5.1.3 Glutaciona Peroxidase (GPx)	30
1.5.1.4 Glutaciona redutase (GR)	31
1.5.1.5 Glutaciona S-transferase (GST)	31
1.5.2 Sistema anti-oxidante não enzimático:	32
1.5.2.1 Glutaciona	32
1.5.2.2 Razão GSH/GSH + GSSG	34
1.5.2.3 Coenzima Q (CoQ)	35
1.5.2.4 Ácido Úrico	36
1.5.2.5 Vitamina E ou Tocoferol	38
1.5.2.6 Vitamina C ou Ascorbato	38
1.5.2.7 β -Caroteno	41
1.5.2.8 Proteínas de transporte de metais de transição	42
1.5.2.8.1 Transferrina	43
1.5.2.8.2 Ceruloplasmina	44
1.5.3 Avaliação de dano oxidativo em componentes celulares	44
1.5.3.1 Marcadores de peroxidação lipídica	46
1.5.3.1.1 Malondialdeído (MDA)	46
1.5.3.1.2 Hidroxinonenal (4-Hidroxi-2-nonenal, HNE)	47
1.5.3.1.3 Isoprostano (8-Epi Prostaglandina 2α, 8-epi-PGF$_{2\alpha}$)	48
1.5.3.2 Marcadores de oxidação de proteínas	48
1.5.3.2.1 Grupos carbonila em proteínas	48
1.5.3.3 Marcadores de espécies reativas de nitrogênio (ERN)	51

1.6 Aspectos nutricionais relacionados com o estudo do estresse oxidativo	53
1.7 A interdisciplinaridade do estudo do estresse oxidativo	57
Capítulo 2- OBJETIVOS	59
2.1 OBJETIVO GERAL	60
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	60
Capítulo 3- MATERIAIS E MÉTODOS	61
3.1 DELINEAMENTO	62
3.2 PROCESSO DE SELEÇÃO DOS INDIVÍDUOS	62
3.2.1 Descrição do grupo estudo	62
3.2.2 Descrição do grupo controle	63
3.2.3 Critérios de seleção	64
3.2.3.1 Critérios de inclusão	64
3.2.3.2 Fundamentação teórica para os critérios de seleção	64
3.2.3.2.1 HAS secundária	64
3.2.3.2.2 Idade	64
3.2.3.2.3 Obesidade e Desnutrição	65
3.2.3.2.4 Diabetes mellitus	65
3.2.3.2.5 Hipercolesterolemia	65
3.2.3.2.6 Tabagismo	65
3.2.3.2.7 Menopausa	66
3.2.3.2.8 Gravidez e lactação	66
3.2.3.2.9 Doença de Wilson	66
3.2.3.2.10 Doença de Keshan	66
3.2.3.2.11 Uso de alopurinol	66
3.2.3.2.12 Uso de probucol	67
3.2.4 Amostra	67
3.3 ASPECTOS ÉTICOS	68
3.4 PROTOCOLO DE INVESTIGAÇÃO	68
3.4.1 Avaliação clínica, bioquímica e antropométrica para a seleção	69
3.4.2 Avaliação nutricional dietética e antropométrica para caracterização da amostra selecionada	69
3.4.2.1 Avaliação dietética	69
3.4.2.2 Avaliação antropométrica	72
3.4.3 Avaliação laboratorial do balanço redox	73
3.4.3.1 Preparo dos pacientes para dosagem dos biomarcadores de balanço redox.	73
3.4.3.1.1 Fundamentação para o preparo dos indivíduos para dosagem dos biomarcadores de balanço redox	73
3.4.3.1.1.1 Suspensão de suplementos vitamínicos e minerais	73
3.4.3.1.1.2 Suspensão de paracetamol	74
3.4.3.1.1.4 Suspensão de bebidas alcoólicas	75
3.4.3.2 Coleta e tratamento das amostras de sangue	75
3.4.3.3 Armazenamento e transporte das amostras de sangue	76
3.4.3.4 Análises das amostras	76
3.4.3.4.1 Análises bioquímicas e hemograma	76
3.4.3.4.2 Análises cromatográficas e espectrofotométricas	76

3.5 PROTOCOLOS EMPREGADOS PARA AS ANÁLISES BIOQUÍMICAS	77
3.5.1 Protocolo para análise de Transferrina (TRF)	77
3.5.1.1 Material de análise	77
3.5.1.2 Reagentes e equipamentos	77
3.5.1.3 Fundamento do método e tratamento dos dados brutos	77
3.5.2 Protocolo para análise de Ceruloplasmina (CER)	78
3.5.2.1 Material de análise	78
3.5.2.2 Reagentes e equipamentos	78
3.5.2.3 Fundamento do método e tratamento dos dados brutos	78
3.6 PROTOCOLOS EMPREGADOS PARA A REALIZAÇÃO DAS TÉCNICAS CROMATOGRÁFICAS E ESPECTROFOTOMÉTRICAS	79
3.6.1 Protocolo para análise simultânea de ascorbato e malondialdeído por HPLC (CLAE) com detecção em ultravioleta, em soro humano, segundo KATEPE, 2004	79
3.6.1.1 Material de análise	79
3.6.1.2 Reagentes e equipamentos	79
3.6.1.3 Procedimento para análise em HPLC-UV	79
3.6.1.4 Comentários sobre o método e tratamento dos dados brutos obtidos	80
3.6.2 Protocolo para determinação da atividade da Catalase (CAT) em sangue humano, adaptado de AEBI, 1984 (Apêndice 14).	80
3.6.2.1 Material de análise	80
3.6.2.2 Reagentes e equipamentos	81
3.6.2.3 Fundamento do método e tratamento dos dados brutos	81
3.6.3 Protocolo para determinação da atividade da Glutaciona peroxidase (GPx) em sangue humano, adaptado de PAGLIA e VALENTINE, 1967 (Apêndice 11).	81
3.6.3.1 Material de análise	81
3.6.3.2 Reagentes e equipamentos	82
3.6.3.3 Fundamento do método e tratamento dos dados brutos	82
3.6.4 Protocolo para determinação da Glutaciona (GSH) em sangue humano, adaptado de AKERBOOM e SIES, 1981 (Apêndice 14).	83
3.6.4.1 Material de análise	83
3.6.4.3 Fundamento do método e tratamento dos dados brutos	83
3.6.5 Protocolo para determinação da atividade da Superóxido Dismutase (SOD) em sangue humano, seguindo o procedimento do kit RANDOX Ransod (Apêndice 15).	84
3.6.5.1 Material de análise	84
3.6.5.2 Reagentes	84
3.6.5.3 Procedimento para leitura de SOD em espectrofotômetro	84
3.6.5.4 Fundamento do método e tratamento dos dados brutos	85
3.6.6 Protocolo para identificação da presença de grupo carbonila em plasma humano, adaptado de LEVINE <i>et al.</i> , 1990 (Apêndice 16).	85
3.6.6.1 Material de análise	85
3.6.6.2 Reagentes e equipamentos	85
3.6.6.3 Fundamento do método e tratamento dos dados	86
3.7 TRATAMENTO ESTATÍSTICO	86
4.1 CARACTERIZAÇÃO DOS GRUPOS ESTUDADOS SEGUNDO CRITÉRIOS DE INCLUSÃO	90

4.2 CARACTERIZAÇÃO DOS GRUPOS ESTUDADOS SEGUNDO COMPOSIÇÃO CORPORAL E ADIPOSIDADE	90
4.3 CARACTERIZAÇÃO DOS GRUPOS ESTUDADOS SEGUNDO ESTUDO DIETÉTICO	93
4.3.1 Consumo de frutas, legumes e verduras	94
4.3.2 Ingestão de energia e dos nutrientes estudados	95
4.3.2.1 Ingestão de energia e de macronutrientes	96
4.3.2.3 Ingestão de vitaminas anti-oxidantes C e E	103
4.3.2.4 Ingestão dos minerais: ferro, zinco, cobre e selênio	105
4.3.2.5 Ingestão dos nutrientes com recomendações nutricionais considerando sua atividade anti-oxidante: vitamina C, vitamina E e Selênio.	107
4.3.2.6 Ingestão de nutrientes com função similar aos fármacos anti-hipertensivos	109
4.4 CARACTERIZAÇÃO DOS HIPERTENSOS SEGUNDO NÍVEIS PRESSÓRICOS E TERAPIA MEDICAMENTOSA UTILIZADA	110
4.5 BIOMARCADORES DE BALANÇO REDOX ESTUDADOS	112
4.5.1 Enzimas antioxidantes: SOD, CAT e GPx	115
4.5.2 Antioxidantes de baixa massa molecular: GSH, ac úrico e ascorbato	118
4.5.3 Proteínas de transporte de metais de transição: TRF e CER	120
4.5.4 Marcadores de dano oxidativo: MDA e Carbonila	122
4.6 ASSOCIAÇÃO ENTRE O BALANÇO REDOX E A DIETA NOS GRUPOS ESTUDADOS	123
4.7 CONSIDERAÇÕES SOBRE O BALANÇO REDOX ENQUANTO SISTEMA INTEGRADO VERIFICADO NESTE GRUPO DE HIPERTENSOS ESTUDADO	124
4.8 CONSIDERAÇÕES FINAIS	126
Capítulo 5-CONCLUSÕES	127
Capítulo 6 - PERSPECTIVAS	130
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	133
ANEXOS	
APÊNDICES	
ATIVIDADES REALIZADAS DURANTE O CURSO DE DOUTORADO	

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Esquema da combinação linear de orbitais atômicos _____	6
Figura 2. A: Esquema geral de redução do oxigênio. B: Versão simplificada dos orbitais moleculares na molécula diatômica de oxigênio e de alguns de seus derivados. _____	7
Figura 3. Fontes e respostas celulares às espécies Reativas de Oxigênio (ERO), de Nitrogênio (ERN), derivados de Enxofre (ERS), de Cloro (ERCI), de carbono (ERC) e ions de metais de transição livres. _____	9
Figura 4. Fontes celulares de espécies reativas (ER) e Distribuição dos anti-oxidantes _____	10
Figura 5. Reações de peroxidação lipídica e estruturas de alguns de seus produtos. _____	15
Figura 6. O ataque oxidativo em proteínas. _____	16
Figura 7- Estresse oxidativo vascular estimulado pela angiotensina II (AngII). _____	20
Figura 8. (A) Fontes de ERO na célula vascular (B) Principais ERO encontrados na célula vascular e fontes. _____	21
Figura 9. Ativação de NAD(P)Hox e conseqüências funcionais na HAS. _____	22
Figura 10. Estrutura do ácido nor-diidroguaiarético (A), indometacina (B) e L-NAME (C). _____	24
Figura 11. Estruturas das substâncias utilizadas para dosagem de SOD. _____	29
Figura 12. Ciclo de reações da glutatona (GSH) _____	31
Figura 13. Ciclo de Interconversão de glutatona _____	33
Figura 14. Reações usadas para detecção de glutatona _____	34
Figura 15. Via metabólica de formação e degradação do Ácido Úrico. _____	37
Figura 16. Estrutura Química da Vitamina C e formas encontradas em pH fisiológico _____	40
Figura 17. Ação anti-oxidante das vitaminas E e C na peroxidação lipídica das membranas celulares _____	41
Figura 18. (A): Resumo do metabolismo do cobre (Cu) e Ferro (Fe). _____	45
Figura 19. Reação utilizada para detecção de Malondialdeído (MDA) em plasma humano. _____	47
Figura 20. Exemplos de formação de grupos carbonila por oxidação de aminoácidos. _____	49
Figura 21. Esquema da reação de 2,4-dinitrofenilhidrazina – _____	50
Figura 22. Estruturas do probucol (A) alopurinol (B) e oxipurinol (C). _____	67
Figura 23. Visualização do posicionamento dos eletrodos para o exame de bioimpedância elétrica em sistema tetrapolar. _____	72
Figura 24. Estruturas do paracetamol (A), seu produto de oxidação (B) e da dexametasona (C). _____	74
Figura 25. Distribuição dos grupos de indivíduos estudados segundo reserva de massa muscular _____	91
Figura 26. Distribuição dos Hipertensos (A) e Controles (B) _____	97
Figura 27. Distribuição dos Hipertensos (A) e controles (B) com $IMC \geq 25 \text{ Kg/m}^2$ e $< 30 \text{ Kg/m}^2$ _____	99
Figura 28. Distribuição dos Hipertensos (A) e controles (B) com $IMC \geq 18,5 \text{ Kg/m}^2$ e $< 25 \text{ Kg/m}^2$ _____	100

<i>Figura 29. Valores obtidos (média ± dp) das enzimas antioxidantes em eritrócitos de Hipertensos(H) e Controles (C).</i>	<u>117</u>
<i>Figura 30. Valores obtidos (média ± dp) de antioxidantes de baixa massa molecular em sangue de Hipertensos(H) e Controles (C).</i>	<u>119</u>
<i>Figura 31. Valores obtidos (média ± dp) de proteínas de transporte de metais de transição em soro de Hipertensos(H) e Controles1(C)</i>	<u>121</u>
<i>Figura 32. Valores obtidos (média ± dp) de marcadores de dano oxidativo em soro e plasma de Hipertensos (H) e Controles (C).</i>	<u>124</u>

LISTA DE TABELAS

<i>Tabela 1. Natureza, geração e destino de espécies radicalares (ou seus intermediários) biologicamente importantes</i>	11
<i>Tabela 2. Atuação das principais espécies radicalares (ou seus intermediários) sobre endobióticos</i>	14
<i>Tabela 3. Algumas doenças relacionadas ao estresse oxidativo</i>	17
<i>Tabela 4. Nutrientes com atividade anti-oxidante direta e fontes alimentares</i>	55
<i>Tabela 5. Nutrientes com atividade anti-oxidante indireta e fontes alimentares</i>	56
<i>Tabela 6. Grupos de nutrientes analisados e fontes de cálculo de composição nutricional dos alimentos</i>	70
<i>Tabela 7. Recomendações nutricionais e terapêuticas dos micronutrientes analisados</i>	71
<i>Tabela 8. Necessidade estimada de energia para adultos e intervalo de distribuição aceitável dos macronutrientes</i>	71
<i>Tabela 9. Valores de referência adotados para os biomarcadores de balanço redox estudados</i>	87
<i>Tabela 10. Caracterização dos grupos estudados segundo alguns critérios de seleção estabelecidos</i>	90
<i>Tabela 11. Distribuição dos grupos estudados segundo circunferência da cintura (CC) e frequência de adiposidade andróide (AA)</i>	92
<i>Tabela 12. Distribuição dos grupos estudados segundo consumo de porções de frutas, legumes e verduras</i>	94
<i>Tabela 13. Distribuição dos grupos estudados segundo ingestão de energia e de nutrientes</i>	95
<i>Tabela 14. Distribuição dos grupos estudados segundo IMC</i>	96
<i>Tabela 15. Distribuição dos grupos estudados segundo ingestão excessiva de energia e IMC</i>	98
<i>Tabela 16. Distribuição dos grupos estudados segundo percentual de macronutrientes provenientes da ingestão energética total média</i>	101
<i>Tabela 17. Distribuição dos grupos estudados segundo ingestão e origem do sódio da dieta</i>	102
<i>Tabela 18. Distribuição dos grupos estudados segundo ingestão inadequada de sódio, potássio e fibras versus recomendações.</i>	103
<i>Tabela 19. Distribuição dos grupos estudados segundo ingestão inadequada de vitaminas anti-oxidantes C e E.</i>	104
<i>Tabela 20. Distribuição dos grupos estudados segundo ingestão inadequada de ferro, zinco, cobre e selênio.</i>	105
<i>Tabela 21. Recomendações nutricionais para antioxidantes na dieta diária de adultos (19 a 70 anos)</i>	107
<i>Tabela 22. Distribuição dos grupos estudados segundo ingestão de anti-oxidantes (AO) da dieta e indivíduos com ingestão adequada para EAR e RDA.</i>	108
<i>Tabela 23. Anti-hipertensivos naturais oriundos da dieta categorizados segundo classe de fármacos anti-hipertensivos</i>	109
<i>Tabela 24. Distribuição dos hipertensos segundo esquema de terapia medicamentosa anti-hipertensiva</i>	110
<i>Tabela 25. Biomarcadores do ambiente redox em sangue de hipertensos e normotensos.</i>	114

<i>Tabela 26. Comparação dos valores obtidos (VO) dos biomarcadores de balanço redox em sangue de hipertensos e normotensos versus valores de referência (VR) adotados</i>	116
<i>Tabela 27. Correlação entre ingestão de vitamina C e ceruloplasmina plasmática segundo grupos estudados</i>	124
<i>Tabela 28. Resumo das diferenças de balanço redox observadas entre hipertensos e controles</i>	125

LISTA DE ANEXOS

Anexo 1. Ficha de cadastro de hipertensos e diabéticos no HIPERDIA –MS

Anexo 2. Porções de frutas, legumes e verduras : o que conta como uma porção segundo o Guia Alimentar para a população Brasileira. MS, 2005.

LISTA DE APÊNDICES

Apêndice 1. Programação de coleta de dados para recadastramento dos hipertensos do município de Flexeiras

Apêndice 2. Preparo para coleta de exame de sangue para avaliação bioquímica (perfil lipídico, glicemia, uréia, creatinina e ácido úrico)

Apêndice 3. Parecer do CEPE de aprovação do projeto de pesquisa “Hábitos alimentares e estado nutricional de hipertensos e diabéticos: uma contribuição às ações de controle de fatores de risco cardiovascular do HIPERDIA-MS do município de Flexeiras”.

Apêndice 4. TCLE do projeto de pesquisa “Hábitos alimentares e estado nutricional de hipertensos e diabéticos: uma contribuição às ações de controle de fatores de risco cardiovascular do HIPERDIA-MS do município de Flexeiras”.

Apêndice 5. Parecer do CEPE de aprovação do projeto de pesquisa para tese de doutorado “Estado anti-oxidante de portadores de hipertensão arterial primária: uma avaliação segundo técnicas bioquímicas, cromatográficas espectrofotométricas e eletroanalíticas”.

Apêndice 6. TCLE do projeto de pesquisa para tese de doutorado “Estado anti-oxidante de portadores de hipertensão arterial primária: uma avaliação segundo técnicas bioquímicas, cromatográficas espectrofotométricas e eletroanalíticas”.

Apêndice 7. Apresentação do projeto “Estado anti-oxidante de portadores de hipertensão arterial primária: uma avaliação segundo técnicas bioquímicas, cromatográficas espectrofotométricas e eletroanalíticas”, para os hipertensos e normotensos estudados na pesquisa.

Apêndice 8. Resultados dos exames, entregues aos voluntários.

Apêndice 9. Carta convite para voluntários e colaboradores e apresentação dos resultados da pesquisa “Análise de biomarcadores de balanço redox em portadores

de hipertensão arterial primária: uma avaliação segundo técnicas bioquímicas, cromatográficas espectrofotométricas e eletroanalítica”.

Apêndice 10. Formulário do Inquérito Dietético Recordatório 24H.

Apêndice 11. Orientações de preparo para o exame de bioimpedância para avaliação da composição corporal e para a coleta de sangue para avaliação de biomarcadores do balanço redox.

Apêndice 12. Apresentação teórica do treinamento realizado para as alunas de nutrição para aplicação do Inquérito Dietético Recordatório 24H.

Apêndice 13. Fluxo de coleta, armazenamento e distribuição das alíquotas de sangue para as análises.

Apêndice 14. Fluxo do experimento realizado para medir GSH, Gpx e CAT em eritrócito humano.

Apêndice 15. Fluxo do experimento realizado para medir SOD em eritrócito humano.

Apêndice 16. Fluxo do experimento para medir carbonila em plasma humano.

Apêndice 17. Planilhas de dados dos critérios de seleção.

Apêndice 18. Planilhas de dados dos Inquéritos Dietéticos Recordatório 24H.

Apêndice 19. Planilhas de cálculo das necessidades energéticas.

Apêndice 20. Planilhas de cálculo das necessidades energéticas por subgrupos segundo IMC.

Apêndice 21. Recomendações nutricionais e terapêuticas dos nutrientes estudados.

Apêndice 22. Medicação anti-hipertensiva em uso pelos hipertensos e posologia.

Apêndice 23. Planilha dos Biomarcadores de balanço redox estudados.

Apêndice 24. Tabelas de correlação dos biomarcadores com diferença significativa entre grupos *versus* nutrientes com diferença significativa entre grupos.

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

AA: Adiposidade andróide

AGEs: “Advanced Glycation end Products”. Produtos de glicação avançada

AI: Adequate Intake - Ingestão adequada

All, Ang II: Angiotensina II

AIDS: “Acquired Immunodeficiency Syndrome”. Síndrome da Imunodeficiência Adquirida

AMDR: “Acceptable Macronutrient Distribution Range”. Intervalos de distribuição aceitável dos macronutrientes

AO: Anti-oxidante

AOBMM: Anti-oxidante de Baixa Massa Molecular

Asc: Ascorbato

AT₁: Receptor de angiotensina 1

AVC, AVE: Acidente Vascular Cerebral, Acidente Vascular Encefálico.

BIA: Bioimpedância elétrica

BH₄: Tetrahidrobiopterina

C: Controle

C[•]: Carbono radicalar

CAT: Catalase

CAOT: Capacidade Anti-Oxidante Total

CC: Circunferência da cintura

CCl₄: Tetracloreto de carbono

CER: Ceruloplasmina

CEPE: Comitê de Ética em Pesquisa

(CHOH)_n, HC: Carboidrato, Hidrocarboneto

CINDI: “Contrywide Integrated Noncommunicable Disease Intervention Programme“

CLAE: Cromatografia Líquida de Alta Eficiência

COx: Ciclooxigenase

CTLF: Capacidade Total de Ligação Ferro

Cu: Cobre

CuZnSOD: Cobre-Zinco Superóxido Dismutase

CYPE1: Citocromo P450

DAC: Doença Arterial Coronariana

DASH: “Dietary Approaches Stop Hypertension”

DBD: Diretrizes Brasileiras de Dislipidemias

DBHA: Diretrizes Brasileiras de Hipertensão Arterial

DBSM: Diretrizes Brasileiras de Síndrome Metabólica

DCNT: Doenças Crônicas Não Transmissíveis

DNPH: Dinitrofenil-hidrazina

DPOC: Doença pulmonar obstrutiva crônica

DRI: “Dietary Reference Intake”. Ingestão Dietética de Referência.

DTNB: 5,5'-Ditiobibis (2-nitro-5-ácido tiobenzóico)

E: Estudo

E1: Endotelina 1

EAR: “Estimated Average Requirement”. Necessidade média estimada

ECA: Enzima Conversora da Angiotensina

ECSOD: Superóxido dismutase extracelular

EDTA: Ácido etilendiaminotetra-acético

EDCF: “Endothelium-Derived Contracting Factor”. Fator de contração derivado do endotélio

EDRF: “Endothelium-Derived Relaxing Factor”. Fator relaxante derivado do endotélio

EDTA: Ácido etilendiaminotetra-acético

EER: “Estimated Energy Requirement”. Necessidade estimada de energia.

eNOS: Óxido nítrico sintase endotelial

ER: Espécies Reativas

ERC: Espécies Reativas de Carbono

ERCl: Espécies Reativas de Cloro

ERN: Espécie Reativas de Nitrogênio

ERO: Espécies Reativas de Oxigênio

ERS: Espécie Reativas de Enxofre

ESR: “Electron Spin Resonance”. Ressonância de spin eletrônico

FAPEAL: Fundação de Amparo à Pesquisa do estado de Alagoas

FL: Frutose-Lisina

GC/NICI-MS: “Gas chromatography/negative ion chemical ionization – mass spectrometry”:
cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas com ionização
química negativa

GC: Grupo Controle

GE: Grupo Estudo

GPx: Glutathione Peroxidase

GR: Glutathione Redutase

GSH: Glutathione, glutathione reduzida

GSSG: Glutathione oxidada

GST: Glutathione S-Transferase

HAS: Hipertensão Arterial Sistêmica

HCT: Hidroclorotiazida

Hb: Hemoglobina

HDL: “High Density Lipoprotein”. Lipoproteína de Alta Densidade

HEMOAL: Hemocentro de Alagoas
HIPERDIA/MS: Plano de reorganização da atenção à hipertensão arterial e ao diabetes mellitus do Ministério da Saúde
HIV⁺: “Human Immunodeficiency Vírus positive”.
HNE: Hidroxinonenal
H₂O₂: Peróxido de hidrogênio
HPLC: “High Performance Liquid Chromatography”.
HU: Hospital Universitário
ICAM 1: “Intracelular Adhesion Molecule”. Molécula de Adesão Intra-Celular1
IDR24H: Inquérito dietético recordatório de 24 horas
IL-1: Interleucina 1
IMC: Índice de Massa Corporal
IM/FNB: “Institute of Medicine/ Food and Nutrition Board”
INT: 2-(4-Iodofenil)-3-(4-nitrofenol)-5-cloreto de feniltetrazol
LACEN: Laboratório Central de Alagoas
LDL: “Low Density Lipoprotein”. Lipoproteína de Baixa Densidade
LH: ácido graxo polinsaturado
Lip: Lipídio
L-NAME: Nitro-L-arginina
LOx: Lipoxigenase
MDA: Malondialdeído
mnSOD; Manganês-Superoxido dismutase
Mo: Monócito
NAD(P)H ox: NAD(P)H oxidase
NAF: Nível de Atividade Física
NCEP/ATPIII: “National Cholesterol Education Program/ Adult Treatment Panel”
NEM: N-Etilmaleimidina
NO^{*}: Óxido nítrico
*OH: Radical hidroxila
OMS: Organização Mundial de Saúde
ONOO⁻: Peroxinitrito
ONOOH: Ácido peroxinitroso
oxLDL: LDL oxidada
O₂^{*}: Ânion radical superóxido
O₂²⁻: Diânion peróxido
PA: Pressão Arterial
PAD: Pressão Arterial Diastólica
PAF: Fator de ativação do plasminogênio
PAS: Pressão Arterial Sistólica

PDGF: "Platelet-Derived Growth Factor"
PMSF: Fluoreto de fenilmetilsulfonila
PTMT: Proteína de Transporte de Metais de Transição
PPSUS: Projeto de Pesquisa para o SUS
PSF: Programa de Saúde da Família
Prot: Proteína
R ou R*: Radical
R₂C=O₃*: Carbonila triplete
R24H: Recordatório de 24 horas
rpm: rotações por minuto
RVP: resistência vascular periférica
SOD: Superóxido dismutase
TBA: Ácido tiobarbitúrico
TBARS: " Reactive Substances .Substâncias Reativas do Ácido Tiobarbitúrico"
t- BOOH: *terc*-Butil-hidroperóxido
TCA: Ácido Tricloroacético
TCLE: Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TCNQ: Tetracianoquinodimetano
TF: Tampão fosfato
TNB: 5-tio-2-nitrobenzoato
TNF- α : "Tumor Necrosis Factor" . Fator de necrose tumoral
TS, TRF: Transferrina Sérica
TTF: Tetratiofulvaleno
UV: Ultravioleta
VSMC: "Vascular smooth muscle cells". células da musculatura lisa vascular
XD: Xantina Desidrogenase
XO: Xantina Oxidase

RESUMO

Há evidências recentes sobre a participação de Espécies Reativas de Oxigênio (ERO) e de Nitrogênio (ERN) na Hipertensão Arterial Sistêmica (HAS), o que indica a importância de estudar os fenômenos que determinam o balanço redox em sangue de indivíduos hipertensos, bem como os aspectos dietéticos relacionados aos mesmos indivíduos. Foram analisadas, em amostras de sangue de 20/433 indivíduos hipertensos e 21/63 controles, Superóxido Dismutase (SOD), Catalase (CAT), Glutathione Peroxidase (GPx), Glutathione (GSH), Vitamina C, transferrina, ceruloplasmina, Malondialdeído (MDA) e grupos carbonila totais. Esses indivíduos foram incluídos no estudo mediante consentimento e selecionados segundo Índice de Massa Corporal - IMC ($\geq 18,5$ e ≤ 30 Kg/m²), glicemia (≤ 100 mg/dL), colesterol sérico (≤ 200 mg/dL), não fumantes, mulheres não grávidas e fora da menopausa, não usuários de alopurinol e probucol. A ingestão dietética de frutas, legumes e verduras, energia e macronutrientes, Na, K, Fibras, Fe, Cu, Zn, Se, pelos grupos em análise, foi avaliada. O grupo selecionado foi submetido a quatro semanas de preparo (sem uso de vitaminas, minerais e suplementos nutricionais, paracetamol dexametazona e álcool), para subsequente análise do balanço redox. Hipertensos quando comparados aos controles apresentaram níveis menores de CAT (p 0,013), GSH (p 0,003) e MDA (p 0,014), e elevados de GPx (p 0,0001) e ceruloplasmina (p 0,015); ingestão deficiente de verduras e legumes (p 0,035), vitamina C (p 0,045), Ferro (p 0,043), Cobre (p 0,003) e Zinco (p 0,026), quando comparados aos controles. Verificou-se associação positiva apenas entre níveis diminuídos de ceruloplasmina e ingestão elevada de vitamina C no grupo controle. Embora os resultados obtidos neste estudo contrariem em parte a literatura, cujos dados, em geral, são de níveis diminuídos de enzimas antioxidantes e elevados de marcadores de dano oxidativo nos indivíduos hipertensos, a obtenção de níveis elevados de GPx e de baixos níveis de MDA são também concordantes com a hipótese de estresse oxidativo da hipertensão, uma vez que haveria maior demanda da enzima quando em excesso de ONOO⁻, espécie essa com concentração aumentada em hipertensão. Com a maior concentração de GPx, cuja atuação é significativa sobre peróxidos, haveria diminuição da peroxidação lipídica, e conseqüente diminuição de MDA. Daí, o estresse oxidativo da hipertensão seria explicado por mecanismo alternativo ao registrado na literatura. Portanto, embora não esteja claro se o estresse oxidativo da HAS primária ou essencial seja causa ou efeito, a ocorrência deste na hipertensão foi verificada no presente trabalho, corroborando estudos já publicados.

ABSTRACT

The participation of reactive oxygen species (ROS) and reactive nitrogen species (RNS) in systemic arterial hypertension (SAH) has been described in recent papers, which indicate the importance of studying the phenomena that influences the redox environment in blood of patients with high blood pressure (hypertenses), as well as the dietary aspects that could be related to it. Analysis of blood from 20/433 people with hypertension and 21/63 controls, for superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), serum glutathione peroxidase (GPx), glutathione (GSH), Vitamin C, transferrin, ceruloplasmin, malondialdehyde (MDA) and carbonyl groups were performed, after the patients' consent. The patients were selected according to their body mass index (BMI) (≥ 18.5 and ≤ 30 Kg/m²), glycemie (≤ 100 mg/dL), serum cholesterol (≤ 200 mg/dL), as non-smokers, women not pregnant or menopausal, not using allopurinol or probucol. The dietary ingestion of fruits, legumes, vegetables, energy and macronutrients Na, K, fibre, Cu, Zn and Se was also studied. The group selected was subjected to four weeks of preparation (no use of nutritional supplements, paracetamol, dexamethasone or alcohol) for subsequent analysis of their blood in terms of redox environment. People with hypertension when compared with controls showed lower levels of CAT (p 0.013), GSH (p 0.003), and MDA (p 0.014), higher levels of GPx (p 0.0001) and ceruloplasmin (0.015); deficient ingestion of vegetables, legumes and Vitamin C (p 0.045), Fe (p 0.043), Cu (p 0.003) and Zn (p 0.026). Positive association was verified only between decreased levels of ceruloplasmin and elevated levels of Vitamin C, in the control group. The results herein presented differ somewhat from the literature, whose data, in general, had shown lower levels of antioxidant enzymes and elevated concentration of markers of oxidative damage in individuals with hypertension. In the present study, elevated levels of GPx and lower levels of MDA were obtained. However, this also agrees with the hypothesis of oxidative stress in hypertension, through an alternative explanation. In case of excess of ONOO, a hypertension characteristic reactive species, there is a greater demand on the enzyme; and with a higher concentration of GPx, whose activity is directed towards peroxides, there would be a reduction on lipid peroxidation and consequent decrease of MDA. It is impossible, at this moment, to define the exact role of the oxidative stress, if cause or consequence. However, the occurrence of oxidative stress in hypertension was verified, corroborating earlier reports.

Capítulo 1- INTRODUÇÃO

1.1. Conceito e epidemiologia da Hipertensão arterial sistêmica (HAS)

A Hipertensão Arterial Sistêmica (HAS) tem sido objeto de muitos estudos devido a sua elevada prevalência e ao alto impacto na morbimortalidade da população. A HAS pode ser primária, essencial ou idiopática (de etiologia multifatorial envolvendo fatores genéticos tais como herança e raça e, fatores ambientais, tais como ingestão de sal, sedentarismo, obesidade, etc), o que representa 95% dos casos, ou secundária (resultante de doenças, principalmente renais), o que representa 5% dos casos. A HAS é diagnosticada, em adultos (> 18 anos), quando se detectam valores médios de duas ou mais mensurações da pressão arterial (PA), em pelo menos duas ocasiões distintas ≥ 90 mm Hg para a diastólica (PAD) e ≥ 140 mmHg para a sistólica (PAS) (V DBHA, 2006).

Dados dos países que participaram do Countrywide Integrated Noncommunicable Disease Intervention Programme (CINDI), da Organização Mundial de Saúde (OMS) mostraram prevalência de HAS de 9 a 34% em homens e 12 a 34% em mulheres de 25 a 64 anos considerando PAS ≥ 160 mmHg e PAD ≥ 95 mmHg, ou usando medicação anti-hipertensiva) (OLMOS e LOTUFO, 2002). Nos Estados Unidos, cerca de 25% de todos os adultos e mais de 60% das pessoas com mais de 60 anos são portadores de HAS (OKOSHI *et al.*, 2001).

No Brasil, inquéritos de base populacional revelam que a HAS primária atinge de 22,3% a 43,9% (> 140/90 mmHg) da população urbana adulta brasileira (V DBHA, 2006), sendo na maioria das cidades estudadas, acima dos 25%, predominando no sexo masculino e com fatores de risco associados semelhantes aos de outros países (LESSA, 2001). Nas regiões, observa-se ampla variação, sendo 1,28% a 27,1% no sul, 6,3% a 16,7% no centro-oeste, 5,04% a 32,7% no sudeste e 7,2 % a 40,3% no Nordeste (DÓREA e LOTUFO, 2004).

A elevação da pressão arterial representa um fator de risco independente, linear e contínuo para doença cardiovascular, com custos elevados decorrentes das suas complicações: doença cerebrovascular, doença arterial coronariana, insuficiência cardíaca, insuficiência renal crônica e doença vascular de extremidades. A HAS é responsável por 40% dos óbitos por acidente vascular encefálico ou cerebral (AVE ou AVC) e 25% dos óbitos por doença arterial coronariana (DAC), e está entre as causas mais freqüentes de hospitalizações entre

as afecções cardiovasculares (IV DBHA, 2002; SIXT JOINT, 1997). No Brasil, em 2003, 27,4% dos óbitos foram decorrentes de doenças cardiovasculares, sendo o AVE ou o AVC a principal causa em todas as regiões, atingindo as mulheres em maior proporção (V DBHA, 2006).

Uma vez que a HAS é um problema de saúde pública, haja vista sua importância na morbimortalidade cardiovascular, o conhecimento dos fatores associados ao seu desenvolvimento, reveste-se de grande importância, para que se possa atuar de forma preventiva adequada.

1.2. Etiopatogenia da HAS: Bases para a hipótese oxidativa da HAS

A HAS, como a maioria das doenças crônicas não transmissíveis (DCNT), envolve tanto componentes etiológicos, ambientais, como hereditários, sendo, portanto, classificada como uma doença poligênica e multifatorial, relacionada a mudanças morfológicas e funcionais no sistema cardiovascular e no controle autonômico.

Em condições normais, a PA deve ser mantida em uma estreita faixa de variação, permitindo uma adequada perfusão tecidual. Este controle envolve grande número de substâncias e de sistemas fisiológicos que interagem de maneira complexa e com redundância para manter a PA em níveis adequados, nas mais diversas situações fisiológicas. A PA é determinada pelo débito cardíaco e pela resistência vascular periférica, que, por sua vez são determinados pelo volume sistólico e frequência cardíaca, e pelo tônus vascular, respectivamente, de tal forma que o seu controle envolve mecanismos neurais e neuro-humorais que, em curto e longo prazo, modulam não só a atividade do sistema nervoso autônomo para o coração e para os vasos, como também o volume sanguíneo e a secreção de vários hormônios como renina, vasopressina, peptídeo natriurético atrial, entre outros (CONSOLIM-COLOMBO *et al.*, 2005; IRIGOYEN *et al.*, 2005), destacando-se o papel do rim e do sistema endotelial. O endotélio vascular é um órgão central no escopo da HAS, inclusive como sede de inúmeros processos de oxido-redução relacionados com a hipótese oxidativa da HAS. Todas as células vasculares (célula endotelial, célula da musculatura lisa vascular – VSMC: vascular smooth muscle cells e fibroblastos) produzem Espécies Reativas (ER), seja de Oxigênio (ERO), via

enzimas NAD(P)H oxidase [NAD(P)H ox] associada à membrana, xantina oxidase (XO), lipoxigenase (LOx), cicloxigenase (COx), seja de Nitrogênio (ERN), através da enzima de síntese do Óxido Nítrico (NO•) (Óxido nítrico sintase endotelial, eNOS) ou monóxido de nitrogênio ou fator de relaxamento derivado do endotélio (Endothelium-Derived Relaxing Factor - EDRF) (TOUYZ e SCHIFFRIN, 2004; LAURINDO *et al.*, 1998).

O óxido nítrico (NO•) é produzido na célula endotelial pela enzima óxido nítrico sintase (eNOS) que converte o aminoácido L-arginina a NO• + L-citrulina, catalisando a oxidação de cinco elétrons com a participação de NAD(P)H/NADP⁺ e do complexo cálcio/calmodulina (MALINSKI, 2005). Sua função é regular o tônus vascular através de ação vasodilatadora sobre as células musculares lisas, e de inibição da atividade plaquetária, agregação de leucócitos e proliferação das células musculares lisas da vasculatura endotelial (LAURINDO *et al.*, 1998; RAMACHANDRAN *et al.*, 2002), sendo fundamental na modulação da pressão arterial.

Na hipertensão arterial, uma rede complexa de sistemas e substâncias vasoativas atua e favorece a produção intravascular de ERO e ERN , com participação importante das enzimas NAD(P)H ox associada à membrana, XO, LOx, COx, eNOS, como será discutido adiante.

1.3. Considerações gerais sobre estresse oxidativo e balanço redox

Os seres vivos se adaptaram, no transcorrer dos últimos dois bilhões de anos, a uma crescente concentração de oxigênio atmosférico, aproveitando-se dos seus benefícios e construindo, ao mesmo tempo, uma complexa rede de controle, para equilibrar suas ações deletérias. A molécula diatômica de oxigênio possui dois elétrons desemparelhados, em sua última camada eletrônica (**Figuras 1 e 2**) e pode, portanto, sofrer redução, gerando diferentes metabólitos, conhecidos pelo nome coletivo de Espécies Reativas de Oxigênio (ERO), que podem reagir com outras espécies, gerando novos radicais, espécies neutras ou carregadas. Essas espécies são produzidas, invariavelmente, em ambiente aeróbio, por uma série de mecanismos, que incluem o “vazamento” eletrônico durante oxidações biológicas, por ação de flavina desidrogenases, por meio de secreções específicas associadas

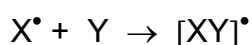
a membranas ou, ainda, por ativação física, via irradiação fotoquímica ou outros fatores externos (**Figura 3**). A depender da sua concentração no tecido, elas exercerão efeitos fisiológicos benéficos ou maléficos. Os organismos desenvolveram mecanismos eficientes de proteção contra o acúmulo excessivo de ERO e ERN (**Figura 3**).

O interesse crescente no estudo dessas espécies reativas e sua relação com a saúde e a doença, com conseqüente evolução dos conhecimentos nesta área, tornou fundamental a discussão interdisciplinar. Um exemplo é a compreensão dos aspectos físico-químicos e bioquímicos de substâncias obtidas através da dieta, relacionados à sua atividade anti-oxidante, fornecendo subsídios para entender a razão da necessidade do consumo alimentar equilibrado de tais substâncias, úteis no planejamento de dietas.

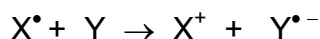
Denominam-se radicais (X^\bullet) todas as espécies químicas paramagnéticas, capazes de existência independente, que contém um ou mais elétrons desemparelhados, condição que as torna extremamente reativas. Durante as reações nas quais essas espécies radicalares estão envolvidas, são formados intermediários reativos, que podem se transformar em tais espécies ao reagir com outras moléculas ou com outros radicais, ou ainda com metais de transição. Os íons de metais de transição catalisam reações redox tais como auto-oxidação e reação de Fenton, graças à sua habilidade para receber e doar elétrons.

Um radical (X^\bullet , R^\bullet) pode reagir segundo diversas possibilidades (MARCH e SMITH, 2001; HALLIWELL e GUTTERIDGE, 2002):

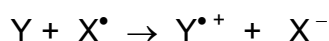
Pode formar um aduto com elétron desemparelhado



Pode ser um agente redutor doando seu elétron a uma espécie não radicalar



Pode ser um agente oxidante recebendo elétron de uma espécie não radicalar



Um radical pode abstrair hidrogênio (H) de uma ligação C–H, com geração de radical centrado no carbono (C^\bullet).

Há ainda outras possibilidades como rearranjo: $R_3CC^\bullet H_2R \rightarrow R_3C^\bullet CH_2R$; aniquilação: $X^\bullet + X^\bullet \rightarrow X-X$; adição: $R^\bullet + H_2C=CH_2 \rightarrow RCH_2C^\bullet H_2$; ruptura (**Figura 5**), etc.

No caso do oxigênio, a distribuição peculiar dos elétrons da camada externa em seus orbitais moleculares, com os dois últimos elétrons desemparelhados ocupando dois orbitais antiligantes (**Figura 1**), explica a habilidade do oxigênio em receber elétrons adicionais nesses orbitais dando origem às suas formas reduzidas reativas como o ânion radical superóxido ($O_2^{\bullet -}$) e o diânion peróxido (O_2^{2-}) (**Figura 2**), em etapas de transferência eletrônica sucessivas. Esses podem sofrer protonação.

Em geral, as células aeróbias obtêm a maior parte de sua energia a partir da oxidação controlada de ligações C-C e C-H, via transferência de elétrons, onde o oxigênio molecular é o acceptor final deles, catalisada por metaloenzimas. A consequência disso é a existência de um ambiente redutor em células e tecidos. O balanço redox em líquidos biológicos, organelas, células ou tecidos, é a soma dos produtos do potencial de redução e da capacidade redutora dos pares redox acoplados presentes. As mudanças no ambiente redox em nível biológico podem causar o estresse oxidativo (SCHÄFER e BUETTNER, 2001; HALLIWELL e GUTTERIDGE, 2002).

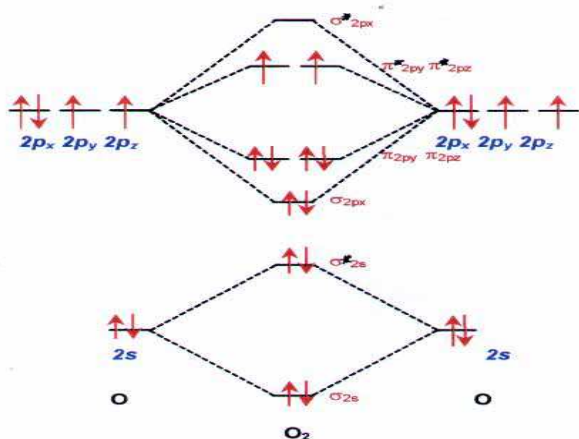
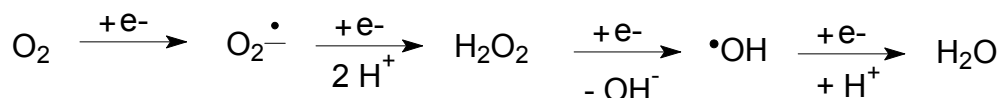


Figura 1. Esquema da combinação linear de orbitais atômicos para a formação dos orbitais moleculares do oxigênio molecular.

As estruturas eletrônicas dos dois átomos de oxigênio (O) estão representadas esquematicamente nos lados direito e esquerdo da figura 1. A parte central mostra a modificação dos arranjos eletrônicos dos orbitais a partir da fusão dos mesmos para formar as ligações interatômicas que estabilizam a molécula diatômica do O_2 . Dois orbitais antiligantes (π^*) são ocupados por um único elétron, enquanto o terceiro orbital antiligante (σ^*) ($2p$) está vazio. Os elétrons dos orbitais $\sigma 1s$ não são mostrados. Fonte: Adaptado de WINTER, 1994 e BERGAMINI *et. al*, 2004 .

A



B

Espécies de oxigênio observadas no estresse oxidativo	Spins da última camada eletrônica	
	Oxigênio Triplete	↑
Ânion Radical Superóxido $\text{O}_2^{\bullet -}$	↑↓	↑
Peróxido de Hidrogênio H_2O_2	↑↓	↑↓
Radical hidroxila $\bullet\text{OH}$	↑↓	↑
Oxigênio Singlete ($^1\Delta_g\text{O}_2$)	↑↓	
Oxigênio Singlete ($^1\Sigma_g + \text{O}_2$)	↑	↓

Figura 2. A: Esquema geral de redução do oxigênio. B: Versão simplificada dos orbitais moleculares na molécula diatômica de oxigênio e de alguns de seus derivados.

Fonte: Adaptado de BERGAMINI *et al.*, 2004 e de HALLIWELL e GUTTERIDGE, 2002.

1.3.1 O estresse oxidativo

A produção de espécies reativas de oxigênio (ERO), de nitrogênio (ERN), entre outras espécies reativas (ER), é parte integrante do metabolismo humano e é observada em diversas condições fisiológicas. ERO e ERN têm importante função biológica, como na fagocitose, fenômeno em que essas espécies são produzidas para eliminar o agente agressor. Por outro lado, quando sua produção é danosa, o organismo dispõe de um eficiente sistema anti-oxidante que consegue controlar e restabelecer o equilíbrio. O estresse oxidativo resulta do desequilíbrio entre o sistema pró e anti-oxidante (FINKEL e HOLBROOK, 2000; SCHAFER e BUETTNER, 2001; HALLIWELL e GUTTERIDGE, 2002), com predomínio dos oxidantes, com dano conseqüente, como ilustra a **Figura 3**. A célula, unidade da vida, é uma verdadeira usina de pró e anti-oxidantes (**Figura 4**).

A **Tabela 1** é uma compilação da literatura sobre a natureza das principais espécies reativas, a sua geração e o seu destino em ambiente biológico. Ela foi construída a partir de informações constantes de uma série de artigos e livros (CAREY e SUNDBERG, 1990; HALLIWELL, 1991; GUTTERIDGE, 1994;

HALLIWELL *et al.*, 1995; HALLIWELL E GUTTERIDGE, 2002; BANDYOPADHYAY *et al.*, 2004; BERGAMINI *et al.*, 2004; HUANG *et al.*, 2005; BARRETO e CORREIA, 2005; MARCH e SMITH, 2001)

1.3.2 Ação das espécies reativas sobre macromoléculas

Em sistemas biológicos, um dos focos de atuação de ERO, de ERN e de outras espécies reativas (**Figura 3, Tabela 1**) é a membrana celular (**Figura 4**). Além da membrana, que envolve a célula, as membranas das organelas intracelulares tais como mitocôndria, retículo endoplasmático, núcleo, etc., apresentam uma estrutura bilipídica e uma variedade de proteínas e açúcares (WISEMAN, 1996) (**Figura 4**). O dano celular resulta basicamente do ataque dos ERO e ERN sobre as macromoléculas, tais como carboidratos [(CHOH)_n], DNA, proteínas e lipídios, conforme mostrado na **Tabela 2, Figura 5 e Figura 6**.

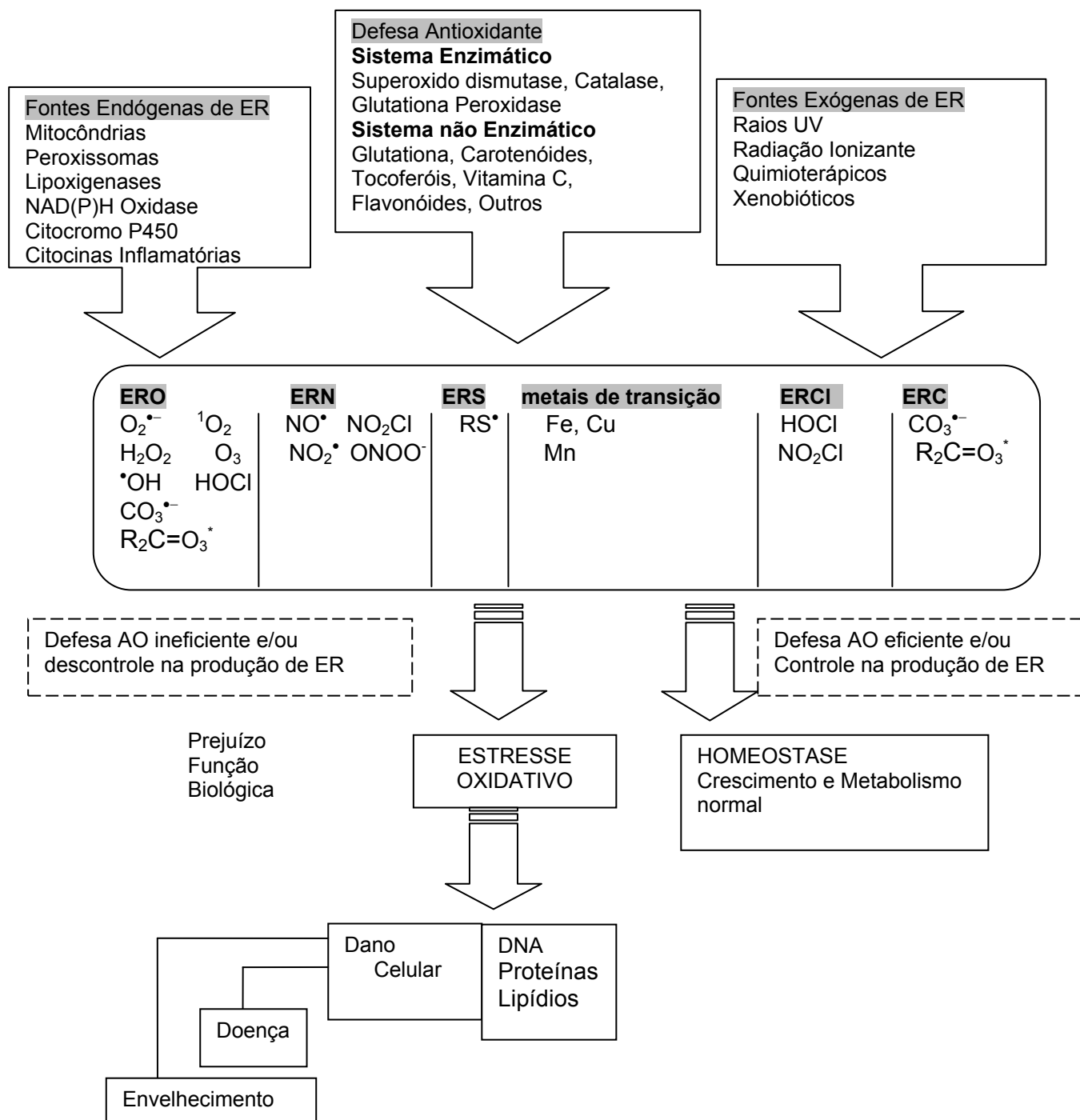


Figura 3. Fontes e respostas celulares às espécies Reativas de Oxigênio (ERO), de Nitrogênio (ERN), derivados de Enxofre (ERS), de Cloro (ERCI), de carbono (ERC) e metais de transição (M^{n+}).

Oxidantes são gerados a partir do metabolismo normal como na mitocôndria, em peroxissomas e em uma variedade de enzimas citosólicas. Existem diversas fontes exógenas de produção de ER. O sistema de defesa anti-oxidante enzimático e não enzimático, quando eficientes, mantém a homeostase fisiológica e quando estão ineficientes, permitem a instalação do estresse oxidativo, representado pelo dano celular em macromoléculas como o DNA, proteínas e lipídios, que se expressam clinicamente como envelhecimento ou doença. Fonte: Adaptado de FINKEL e HOLBROOK, 2000.

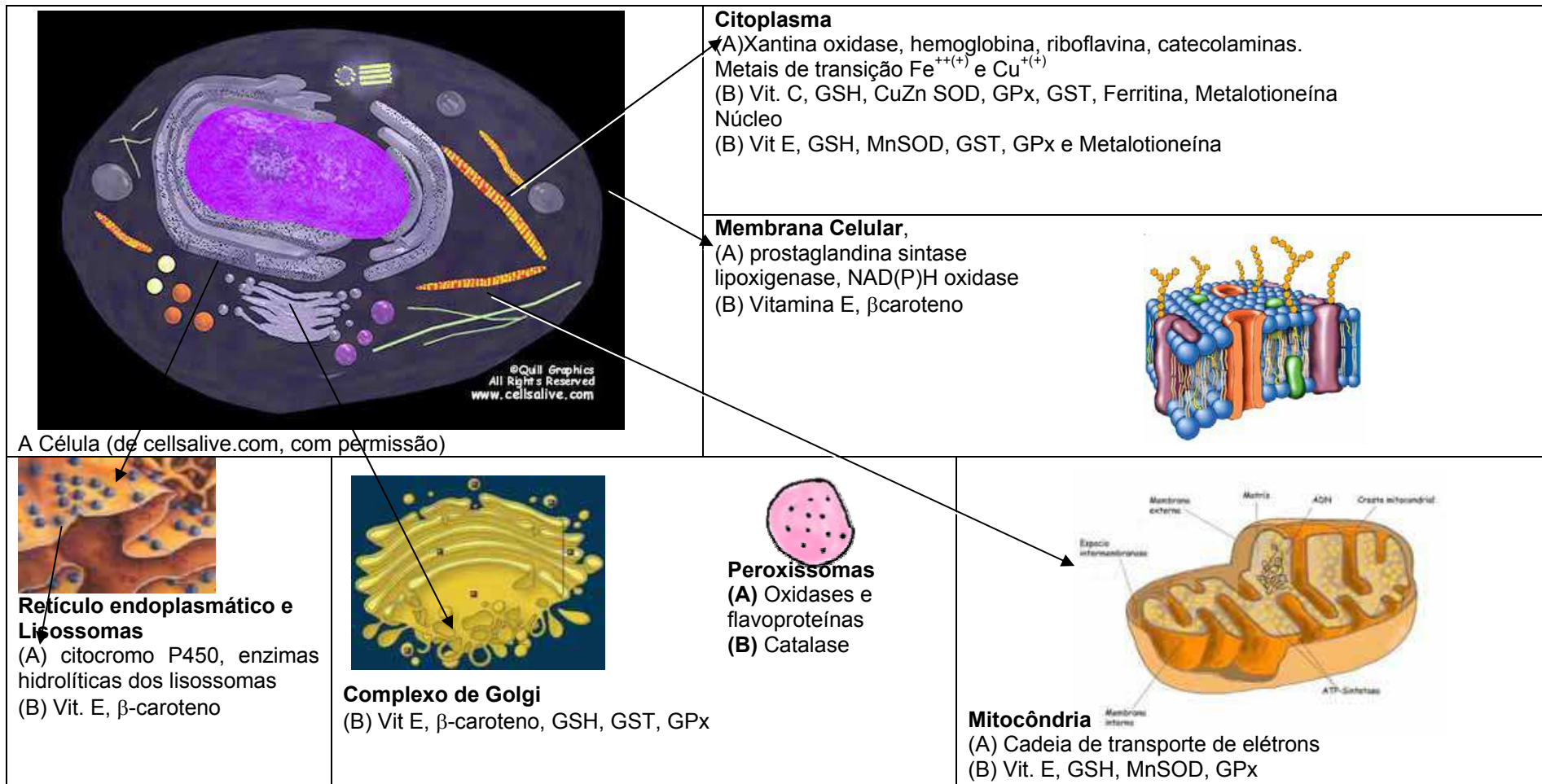


Figura 4. Fontes celulares de espécies reativas (ER) e Distribuição dos anti-oxidantes

(A) Fontes celulares de ERO e ERN e outras, por ação de várias enzimas. A capacidade de uma via específica produzir ER varia com o tipo de célula e com o dano em curso; por exemplo na fagocitose as NAD(P)H oxidases da membrana de neutrófilos e macrófagos são particularmente ativadas e reduzem O_2 a $O_2^{\bullet-}$.

(B) Distribuição dos anti-oxidantes, enzimas de desintoxicação e proteínas de ligação a metais de transição que compreendem o sistema de defesa dentro das membranas e organelas celulares.

Tabela 1. Natureza, geração e destino de espécies radicalares (ou seus intermediários) biologicamente importantes

Espécies Derivadas do Oxigênio	
Ânion superóxido $O_2^{\bullet-}$	<p>Gerado continuamente por diversos processos celulares (cadeia de transporte de elétrons na mitocôndria, no microsomo, através enzimas como xantina oxidase e NADPH oxidase), ou pela redução monoelétrica de O_2</p> <p>Rapidamente desaparece em solução aquosa por reação de dismutação:</p> $O_2^{\bullet-} + O_2^{\bullet-} + 2H^+ \longrightarrow H_2O_2 + O_2$ <p>Em solução aquosa é um forte agente redutor. Sua habilidade em reduzir Fe^{3+} a Fe^{2+} pode acelerar a reação de Fenton:</p> $O_2^{\bullet-} + Fe^{3+} \longrightarrow Fe^{2+} + O_2$ <p>Em solução aquosa é um oxidante fraco, porém pode formar ERN</p> $O_2^{\bullet-} + NO^{\bullet} \longrightarrow ONOO^-$ <p>As membranas são permeáveis ao $O_2^{\bullet-}$. Em fagócitos, como neutrófilos e macrófagos, é um dos microbicidas mais importantes.</p>
Peróxido de Hidrogênio H_2O_2	<p>Intermediário formado pela reação de dismutação de $O_2^{\bullet-}$ catalisada pela enzima SOD, pela redução de 2 e⁻ na molécula de O_2 e pela ação de diversas enzimas oxidases <i>in vivo</i>, localizadas nos peroxissomas.</p> <p>É muito difusível dentro e entre as células <i>in vivo</i></p> <p>É um fraco agente oxidante e um fraco agente redutor, reage lentamente com tióis, com sais de ferro e cobre reduzidos, com proteínas heme e peroxidases para iniciar reações radicalares e peroxidações lipídicas.</p> <p>Em presença de metal de transição gera $\bullet OH$, através da reação de Fenton</p> $Fe^{2+} + H_2O_2 \longrightarrow Fe^{3+} + \bullet OH + \bullet OH$
Radical Hidroxila $\bullet OH$	<p>É o mais reativo e mais lesivo radical conhecido e para o qual, uma vez formado, o organismo humano não dispõe de mecanismo de defesa; reage com uma série de endobióticos; causa modificação no DNA (com modificação das bases e quebras das fitas), danos nas proteínas e inativação enzimática, peroxidação lipídica. Âmbito limitado de ação (poucos diâmetros moleculares).</p>
Radicais Peroxila (RO_2^{\bullet}) Alcoxila (RO^{\bullet})	<p>Formados durante a decomposição de peróxidos orgânicos e por reações de carbono radicalar com oxigênio, como na peroxidação lipídica.</p>

Cont Tabela 1

Oxigênio singlete $^1O_2^*$	<p>Estado eletronicamente excitado do oxigênio, produzido por reações fotoquímicas ou por outras radiações; reage com um grande número de moléculas biológicas, incluindo lipídeos da membrana, iniciando processos de peroxidação.</p> <p>O oxigênio singlete ($^1O_2^*$) pode ser gerado, entre outras reações, por transferência de energia a partir de um sensibilizador S, no estado excitado tripleto ($^3S^*$) (porfirinas, clorofila e riboflavina) para o oxigênio. O sensibilizador S absorve energia e deixa o estado fundamental singlete (S), passando para o estado excitado singlete ($^1S^*$), a partir do qual é convertido, por cruzamento intersistema, para o estado excitado tripleto ($^3S^*$).</p> $S \longrightarrow \overset{1}{S}^* \longrightarrow \overset{3}{S}^*$ $\overset{3}{S}^* \longrightarrow \overset{3}{O_2}^* \longrightarrow S + \overset{1}{O_2}^*$
Espécies Derivadas do Nitrogênio e Cloro	
Ácido hipocloroso HOCl	<p>Espécie não radicalar, membrana-permeável, oxida um grande número de compostos biológicos, como tióis e tioéteres, aminas, fenóis e ligações insaturadas; mais seletivo do que o radical hidroxila; oxida ferro e proteínas.</p> <p>Produzido por fagócitos ativados, reage com $O_2^{\bullet-}$ para formar $\bullet OH$</p> <p>É produzido no miocárdio, como resultado de invasão de células inflamatórias</p> $HOCl + O_2^{\bullet-} \longrightarrow \bullet OH + \bar{OH} + O_2$
Óxido nítrico ou monóxido de nitrogênio NO^{\bullet}	<p>Sintetizado nos organismos vivos pela ação da enzima óxido nítrico sintase (eNOS) que converte o aminoácido L-arginina a NO^{\bullet} + L-citrulina.</p> <p>É um radical abundante que age em uma variedade de processos biológicos, incluindo relaxação muscular, neurotransmissão e regulação imune. Originalmente identificado como fator relaxante derivado do endotélio ("endothelium-derived relaxing factor": EDRF) é um potente vasodilatador, envolvido na regulação da pressão arterial. Difunde-se rapidamente entre e dentro das células.</p> <p>Quando exposto ao ar reage com oxigênio para formar NO_2^{\bullet}</p> $2 NO^{\bullet} + O_2 \longrightarrow 2 NO_2^{\bullet}$ <p>Reage rapidamente com $O_2^{\bullet-}$ e produz o intermediário $ONOO^-$</p> $O_2^{\bullet-} + NO^{\bullet} \longrightarrow ONOO^-$

Cont. Tabela 1

Dióxido de nitrogênio NO_2^*	Formado a partir da exposição de NO^* ao ar ou da protonação de peroxinitrito $2 \text{NO}^* + \text{O}_2 \longrightarrow 2 \text{NO}_2^*$ Potente iniciador da peroxidação lipídica em fluidos biológicos
Clorato de nitrila NO_2Cl	Formado a partir de misturas de NO_2 e HOCl . Oxidante, agente de cloração e de nitração, pode inibir fosforilação dependente de quinase de resíduos de tirosina, provoca a cloração de resíduos de tirosina (3-clorotirosina é considerada biomarcador)
Peroxinitrito ONOO^-	Intermediário formado pela reação $\text{O}_2^{\cdot-} + \text{NO}^* \longrightarrow \text{ONOO}^-$ Instável, tempo de vida curto, oxidante potente, propriedades semelhantes ao radical hidroxila; causa danos a muitas moléculas biológicas, inclusive a grupos S-H das proteínas, provoca hidroxilação e nitração de compostos aromáticos. Forma $^*\text{OH}$ independente da presença de metal de transição. $\text{ONOO}^- + \text{H}^+ \longrightarrow ^*\text{OH} + \text{NO}_2$ Após protonação, rearranja-se para nitrato (NO_3^-) e interage com bicarbonato ($\text{CO}_2/\text{HCO}_3^-$), com alteração de sua reatividade. $\text{ONOOH} \rightleftharpoons [\text{NO}_2^* \text{OH}] \longrightarrow \text{NO}_3^-$ Em presença de CO_2 , o peroxinitrito forma o peroxicarboxilato nitroso, que rapidamente se decompõe, segundo as etapas 1 e 2. O CO_2 está presente em elevada concentração no compartimento intra e extracelular, o que favorece a formação do $\text{CO}_3^{\cdot-}$ em presença de ONOO^- $\text{ONOO}^- + \text{CO}_2 \longrightarrow \text{ONOOCO}_2^- \longrightarrow \text{NO}_2\text{O CO}_2^-$ (1) $\text{NO}_2\text{OCO}_2^- \longrightarrow \text{NO}_3^- + \text{CO}_2$ (65%) (2) $\text{NO}_2\text{OCO}_2^- \longrightarrow \text{NO}_2 + \text{CO}_3$ (35%) O ânion radical carbonato formado é mediador de diversas reações de oxidação e nitração.
Cloramínas	Oxidantes mais suaves e de vida mais longa que HOCl , reage com tióis, tioéteres, centros metálicos de ferro. Toxicidade variável, dependendo da polaridade e da permeabilidade da membrana; cloramínas de α -aminoácidos sofrem degradação para aldeídos potencialmente tóxicos.
Espécies Derivadas do Enxofre	
Radical tifa RS^*	Denominação genérica para um grupo de radicais com o elétron desemparelhado, residindo no enxofre. Formado quando um grupo tiol (RSH) reage com uma espécie radicalar ($^*\text{C}$, $^*\text{OH}$, RO^* , RO_2^* , $\text{O}_2^{\cdot-}$, NO_2^* ou com metais de transição).
Miscelâneos e metais	
Fe, Cu, Mn,	Catalisam reações de radicais livres Fe^{2+} em presença de O_2 gera $\text{O}_2^{\cdot-}$, que, por sua vez, pode reduzir Fe^{3+} a Fe^{2+} $\text{Fe}^{2+} + \text{O}_2 \longrightarrow \text{Fe}^{3+} + \text{O}_2^{\cdot-}$ Fe^{2+} em presença de H_2O_2 gera $^*\text{OH}$ (reação de Fenton) $\text{Fe}^{2+} + \text{H}_2\text{O}_2 \longrightarrow \text{Fe}^{3+} + \text{OH}^- + \text{OH}^*$ Fe^{3+} em presença de H_2O_2 gera $\text{O}_2^{\cdot-}$ Cu^{2+} e Mn^{2+} também catalisam a dismutação de $\text{O}_2^{\cdot-}$ em H_2O_2 . OBS: em sistemas biológicos, pH fisiológico (7,4), o Fe^{2+} só existe transientemente antes de se auto-oxidar ao estado férrico Fe^{3+}

Tabela 2. Atuação das principais espécies radicalares (ou seus intermediários) sobre endobióticos

Endobiótico	Sumário das reações mais importantes
Açúcares (CHOH) _n	[•] OH reage com (CHOH) _n por abstração randomizada de um átomo de H de um dos átomos de C, produzindo um radical centrado no carbono. Isto leva à quebra da cadeia de importantes moléculas, tais como o ácido hialurônico.
Ácidos Nucléicos	ERO, principalmente [•] OH, atacam o açúcar desoxirribose (principalmente em 4' e/ou 5') e as bases purínicas (adenina e guanina) e pirimidínicas (timina, citosina e uracila), com ataque preferencial à guanina, gerando 8-hidroxi- ou 8-oxoguanina, mutagênicas. Como resultado, ocorre a quebra da cadeia do DNA, a ligação cruzada entre as fitas e modificações nas suas bases levando a mutações e apoptose.
Proteínas	As proteínas têm muitos sítios reativos. Durante o estresse oxidativo, o primeiro evento é a formação de um radical centrado no carbono, por extração de H [•] do carbono α, em uma ligação peptídica, daí, ocorre fragmentação das cadeias e oxidação de quase todos os tipos de aminoácidos, com produção freqüente de compostos carbonilados, particularmente a partir de prolina, arginina e lisina (Figura 6). Essa modificação (conteúdo em proteínas carboniladas) é facilmente mensurável. Adicionalmente, proteínas podem conter sítios de ligação com metais que são especialmente susceptíveis a reações reversíveis de oxidação e redução, as quais podem produzir uma seqüência de sinais que podem ser reconhecidos por proteases celulares específicas que degradam tais proteínas. Muitas proteínas intracelulares têm grupos sulfidríla reativos em resíduos de cisteína, que podem ser oxidados a dissulfeto ou ácidos cistéicos, que podem ser novamente reduzidos metabolicamente. Similarmente, muitas proteínas têm um aminoácido metionina que pode sofrer modificação reversível a sulfóxido ou sulfona. Os aminoácidos aromáticos formam quinurenina, grupos catecólicos e polímeros. Há formação de produtos de adição com peróxidos lipídicos e com hidroxialdeídos derivados de lipídeos insaturados.
Lipídios	A peroxidação lipídica é causada pelo ataque de uma ER (geralmente [•] OH) que abstrai um átomo de hidrogênio (H [•]) de um grupo metileno alílico, normalmente, de um ácido graxo poli-insaturado, deixando um elétron desemparelhado no carbono, caracterizando a etapa de iniciação. Este radical é usualmente estabilizado por rearranjo molecular formando um dieno conjugado. Sob condições aeróbicas, o carbono radicalar do dieno conjugado, reage com O ₂ (que é uma molécula hidrofóbica e, portanto se concentra no interior das membranas) e forma o radical peroxila. Este radical peroxila é capaz de abstrair H [•] de moléculas de lipídios adjacentes, cujo carbono radicalar sofre novo rearranjo, reage com O ₂ e forma outro radical peroxila e assim sucessivamente, caracterizando a reação em cadeia da etapa de propagação. O radical peroxila combina-se com o H [•] abstraído gerando o lipídio hidroperóxido (LOOH) que se acumula no interior da membrana, como malonaldeído e 4-hidroxinonenalaldeído, entre outros. Na decomposição dos hidroperóxidos lipídicos são gerados radicais peroxila e alcóxila através da reação de Fenton. A terceira e última etapa da peroxidação lipídica, a etapa de terminação se instala com a neutralização dos radicais formados por ação de anti-oxidantes lipossolúveis (α-tocoferol, β-caroteno, NO [•]) ou pela reação de dois radicais lipídicos formando produtos não radicalares. Nos sistemas biológicos, a peroxidação lipídica pode ocorrer por via enzimática (ciclooxigenases e peroxidases) e por via não enzimática (auto-oxidação) cujo mecanismo supracitado envolve a participação de espécies reativas de oxigênio, metais e outros radicais livres. Pode ocorrer peroxidação de estruturas supramoleculares, como em fosfolipídeos e em agregados de lipoproteínas. Todas estas modificações oxidativas causam mudanças nas propriedades físicas e químicas das membranas, alterando sua fluidez e permeabilidade com expansão do líquido intracelular e risco de ruptura das membranas da célula e das organelas, com conseqüente morte celular. Reações envolvendo os vários intermediários entre si, levam a novos produtos, por exemplo, malondialdeído (MDA) reage com o grupo amina de purinas e HNE reage com guanosina (Figura 5).

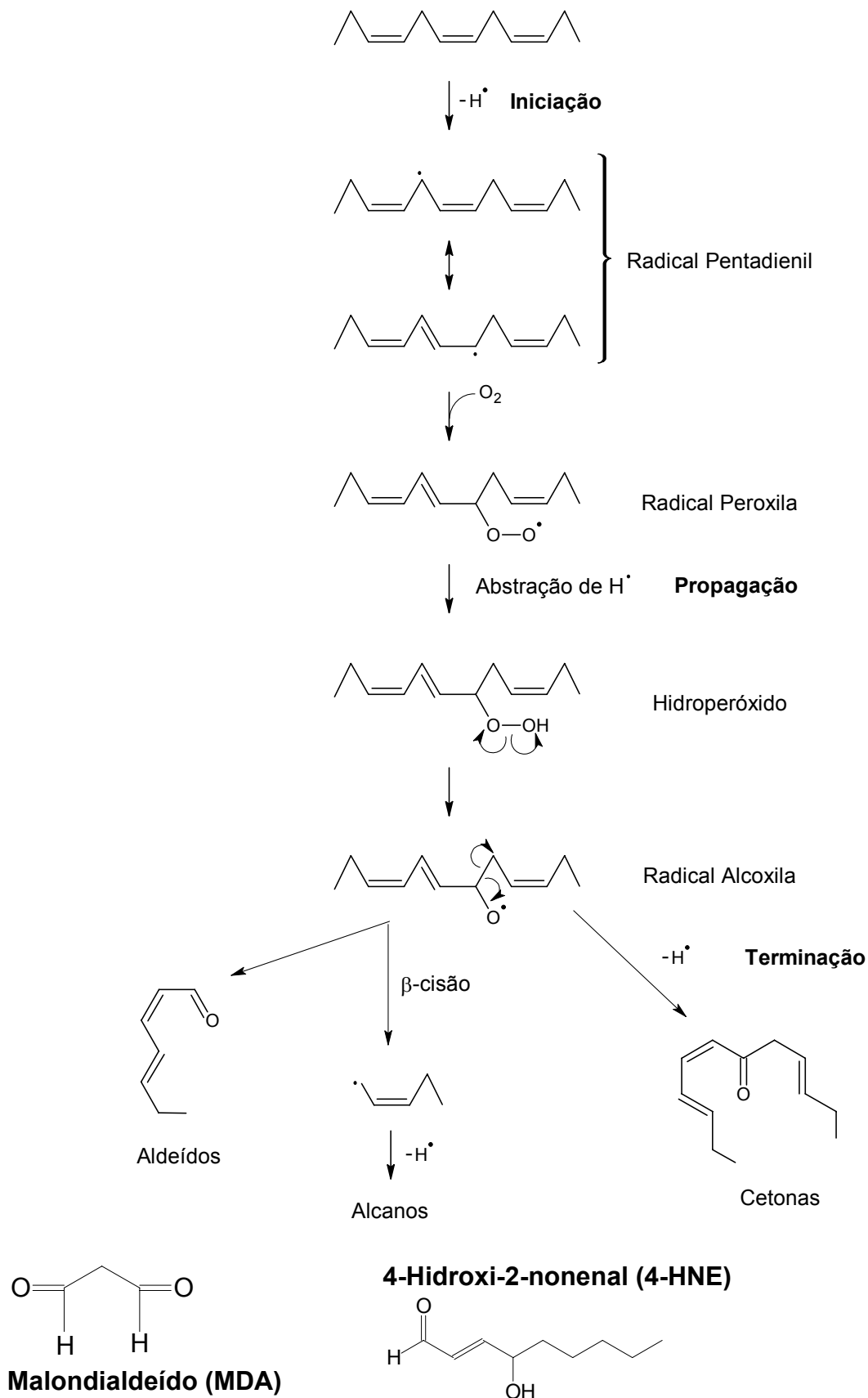


Figura 5. Reações de peroxidação lipídica e estruturas de alguns de seus produtos. Fonte: Adaptado de HALLIWELL & GUTTERIDGE (1999).

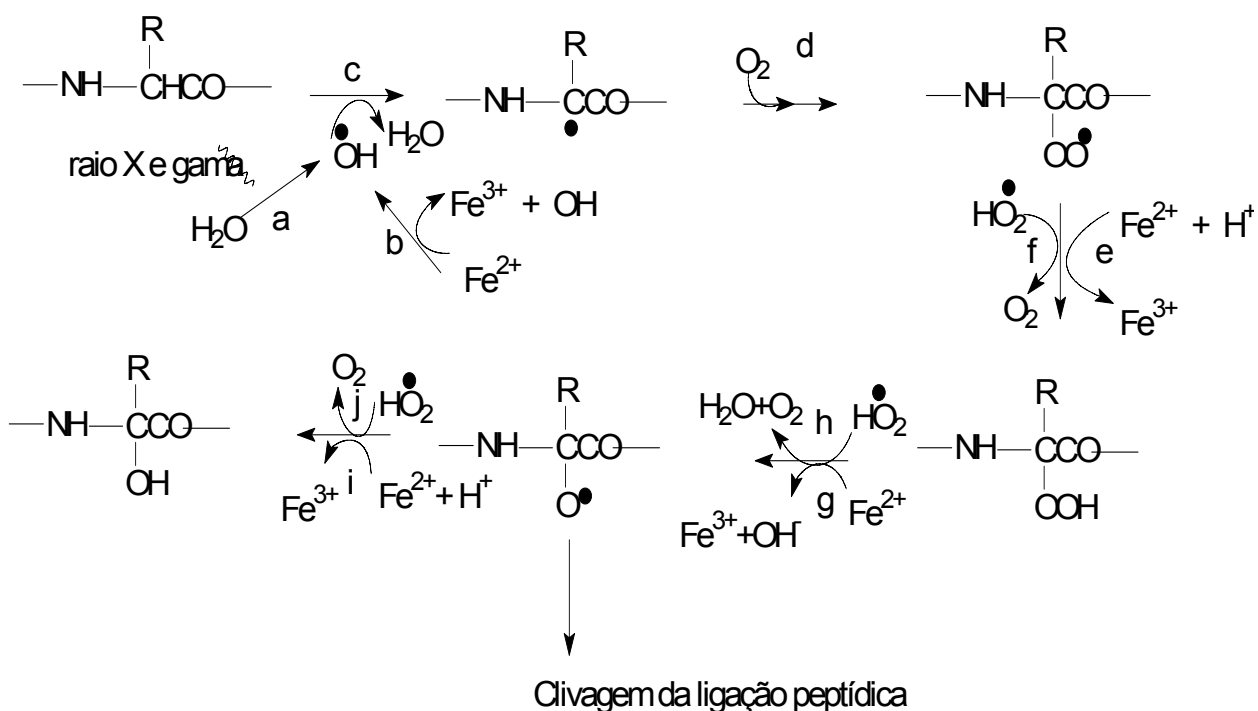


Figura 6. O ataque oxidativo em proteínas.

É iniciado por $\cdot\text{OH}$, oriundo da radiólise da água ou de quebra catalisada por metal, com abstração de H do carbono α e formação de radical centrado no carbono (reações a, b, e c). Esse radical reage rapidamente com O_2 e forma o intermediário alquilperoxila (reação d) que, por sua vez, em presença de $\cdot\text{OH}$, forma o radical alquilperóxido, e, em seguida, o radical alcoxila (reações f e h). A partir desse radical alcoxila segue-se a etapa de quebra das ligações peptídicas seja pela via de diamina ou por α -amidação. O radical alcoxila pode ser convertido a um derivado protéico hidroxilado em presença de $\cdot\text{OH}$ ou de metal de transição (reações j e i). Metais de transição como Cu^+ (não mostrado) e Fe^{2+} podem atuar como catalisadores (reações e e g, além de i). Fonte: Extraído de BERLETT e STADTMAN, 1997.

Existe forte evidência de que o estresse oxidativo tem importância capital nos processos de envelhecimento, transformação ou morte de células, com conseqüências diretas em muitos processos patológicos, entre eles, a indução do câncer e a propagação de AIDS em pacientes soropositivos (HIV^+), bem como na fisiopatologia de muitas doenças crônicas, tais como doenças cardiovasculares, câncer e doenças do pulmão (**Tabela 3**) (GUTTERIDGE, 1993; PAGANO *et al.*, 1998; ZWART *et al.*, 1999; GUERRA, 2001; HALLIWELL e GUTTERIDGE, 2002).

Tabela 3. Algumas doenças relacionadas ao estresse oxidativo

Doença	Natureza do envolvimento com ER
Aterosclerose, Síndrome de Bloom, Síndrome de Down, Kwashiorkor, Doença de Keshan	Falha ou consumo excessivo de defesas anti-oxidantes.
Doença de Parkinson, estados tóxicos causados por álcool, fumo, CCl ₄ .	Uso de fármacos e toxinas. Na doença de Parkinson, as toxinas produzidas estariam envolvidas com a produção de ER.
Doença de Alzheimer, Asma, Artrite Reumatóide, Asbestose, Síndrome de Insuficiência Respiratória do Adulto	Produção de O ₂ ⁻ , H ₂ O ₂ e HClO, por células fagocíticas ativadas.
Esclerose múltipla	Perturbação morfológica da célula. As hemácias se tornam mais susceptíveis à ação das ER.
Doença granulomatosa crônica	Defeito genético no sistema anti-oxidante.
Diabetes mellitus, anoxia, injúria da reperfusão, pré eclampsia	Oxidação anormal de substratos ou mudanças na concentração de oxigênio.
Hipertensão Arterial Sistêmica	Produção de O ₂ [•] por NAD(P)H/NADPox.
Hemocromatose idiopática, anemia falciforme, talassemia, doença de Wilson	Transferência de elétrons ao oxigênio por metais de transição.
Doença granulomatosa crônica, Deficiência de enzimas anti-oxidantes (p.ex. Acatalasemia)	Defeito genético no sistema anti-oxidante.

Fonte: Adaptado de GUTTERIDGE, 1993; ZWART *et al.*, 1999; PAGANO *et. al.*, 1998; GUERRA, 2001; HALLIWELL e GUTTERIDGE, 2002.

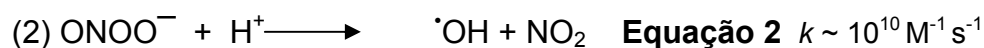
Entre as doenças cardiovasculares, vale comentar que, na última década o papel de ER no sistema cardiovascular tem sido objeto de muito interesse e de pesquisas (PARAVICINI e TOUYZ, 2006). A atuação das ERO e ERN sobre o sistema cardiovascular envolve a regulação e a diferenciação celular, a modulação de matriz extra-celular, a inativação de NO[•] e a estimulação de muitas cinases (SAMPAIO e SANTOS, 2004; TOUYZ e SCHIFFRIN, 2004). Muitos destes efeitos estão associados com a HAS, que por sua vez, possui uma rede complexa e importante de mecanismos relacionados à presença de ERO e ERN, que reunidos, explicam a hipótese oxidativa da HAS, discutida a seguir.

1.4. Hipótese oxidativa da HAS

A HAS é uma condição caracterizada por disfunção endotelial, um fenômeno que, apesar de discutido se primário ou secundário à HAS (RIZZONI, 2002), tem uma importância fundamental na sua gênese e manutenção, e se acompanha de mudanças estruturais (hipertrofia da parede arterial e aumento da razão parede/lúmen) e funcionais (síntese e liberação de fatores vasoativos) do sistema vascular em resposta a mudanças nas condições hemodinâmicas. Na disfunção endotelial da HAS, o papel central reside no impedimento do vaso-relaxamento causado pela menor bioatividade do NO[•] na parede vascular, devido, inclusive, ao estresse oxidativo, que, como citado anteriormente, resulta do desequilíbrio entre os sistemas anti-oxidante e pró-oxidante, prevalecendo a ação deletéria de ERO ou ERN sobre células, tecidos e órgãos (REV SOCESP, 1996; ABREU *et al.*, 2002; HALLIWELL e GUTTERIDGE, 2002; LAURINDO *et al.*, 1998; RAMACHANDRAN *et al.*, 2002; CHAMPLAIN *et al.*, 2004; BANDYOPHADHYAY, 2004; FERRONI *et al.*, 2006).

O aumento da resistência vascular periférica (RVP), observado na HAS, deve-se, principalmente à redução no diâmetro do lúmen das artérias, devido à resistência aumentada. Considerando que a resistência é inversamente proporcional a quatro vezes o raio, uma pequena mudança no diâmetro pode ter um impacto significativo na resistência vascular. As pequenas artérias e arteríolas, submetidas às mudanças estruturais e funcionais, determinam a HAS (REV SOCESP, 1996; FERRONI *et al.*, 2006).

O estresse oxidativo vascular é caracterizado pela superprodução do ânion radical superóxido (O₂^{•-}) (McINTYRE *et al.*, 1999; WARD *et al.*, 2003; PORTALUPPI *et al.*, 2004), que inibe a atividade do NO[•] e reage com NO[•] para formar peroxinitrito (ONOO⁻), um intermediário reativo particularmente lesivo (**Equação 1**), uma vez que é capaz de formar o radical hidroxila (•OH), independente da presença de metal de transição (**Equação 2**) (LAURINDO *et al.*, 1998; HALLIWELL e GUTTERIDGE, 2002; LASSÉGUE e GRIENGLING, 2004).



A menor disponibilidade de $\text{NO}\cdot$ favorece uma maior atividade da Endotelina-1 (ET-1) ou EDC, promove crescimento das células endoteliais e vasoconstrição e, portanto participa na patogênese do estresse oxidativo da HAS (PORTALUPPI *et al.*, 2004; SAMPAIO e SANTOS, 2004).

Assim o estresse oxidativo vascular resultaria em HAS, uma vez que fatores vasoconstritores estariam em preponderância em relação aos fatores vasodilatadores. A principal fonte de $\text{O}_2\cdot^-$ seria o complexo enzimático NADH / NAD(P)Hox, que catalisa a redução do oxigênio molecular utilizando NAD(P)H como doador de elétrons gerando $\text{O}_2\cdot^-$. O sistema NADH / NAD(P)Hox é a maior fonte de $\text{O}_2\cdot^-$, nas membranas das células endoteliais e musculares lisas (PARAVICINI e TOUYZ, 2006; PORTALUPPI *et al.*, 2004; TOUYZ, 2004; BESWICK *et al.*, 2001).

Como citado anteriormente, a patogênese da HAS envolve predisposição genética e exposição a fatores ambientais (fumo, hábitos alimentares, sedentarismo, etc), de modo que a pressão normal é mantida por uma complexa rede de sistemas cardiovasculares, entre eles, o balanço de sódio, vasodilatação e função renal, destacando-se a atividade da angiotensina II do sistema renina angiotensina aldosterona (SRAA). A angiotensina II (Ang II) ativa a produção de NAD(P)H ox e diminui a biodisponibilidade de $\text{NO}\cdot$ por alterar a síntese de eNOS. A ativação de NAD(P)H ox via receptor AT_1 (receptor de Angiotensina 1) desencadeia, também, o processo de crescimento vascular, já que as espécies reativas geradas ativam cascatas proliferativas no músculo liso vascular (ROMERO e RECKELHOFF, 2000; RECKELHOFF ROMERO, 2003; SAMPAIO e SANTOS, 2004; WARD *et al.*, 2003; VIOLI *et al.*, 2004; PARAVINCINI e TOUYZ, 2006).

Existe, portanto, um mecanismo relacionado ao SRAA (**Figura 7**) e um mecanismo que independe deste sistema. Ambos explicariam o estresse oxidativo na hipertensão arterial (HALLIWELL e GUTTERIDGE, 2002; SAMPAIO e SANTOS, 2004; TOUYZ, 2004; VIOLI *et al.*, 2004). Entre eles, o que há em comum é a ativação da enzima NAD(P)H ox, encontrada na membrana das células musculares lisas do endotélio, e um predomínio do sistema pró-oxidante.

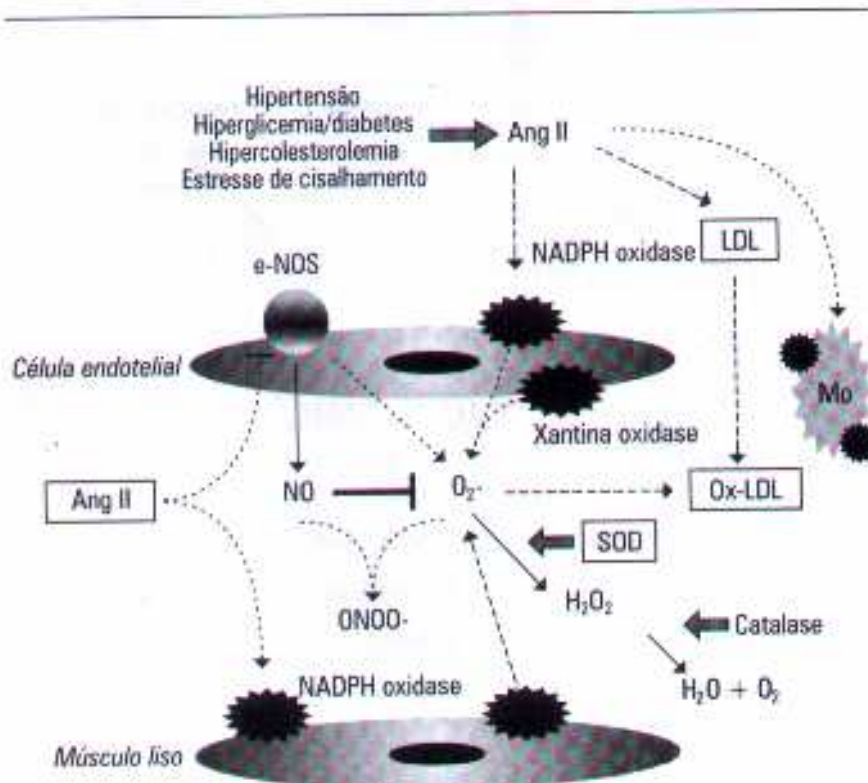


Figura 7- Estresse oxidativo vascular estimulado pela angiotensina II (AngII).

A produção local de Ang II estimula a NAD(P)H ox e XO que são fontes de superóxido ($O_2^{\bullet-}$) e provoca alterações na atividade do óxido nítrico sintase endotelial (eNOS), que também, leva à formação de $O_2^{\bullet-}$. Esse desequilíbrio entre a formação de NO e $O_2^{\bullet-}$, que, em condições fisiológicas, são produzidos em quantidades equimolares, leva à formação de peroxinitrito ($ONOO^{\bullet}$) e potencializa a oxidação do LDL (oxLDL). SOD, superóxido dismutase; Mo, monócitos. Fonte: Extraído de SAMPAIO e SANTOS, 2004. (Setas pontilhadas: ação de Ang II, setas cheias: sistema anti-oxidante enzimático).

O declínio na atividade de NO^{\bullet} pode ser devido a quatro (4) fatores: (1) Diminuição na expressão de eNOS; (2) Ausência de substrato ou cofator para eNOS; (3) Alteração da sinalização celular de modo que eNOS não é apropriadamente ativada; (4) Degradação acelerada de eNOS (CAI e HARRISON, 2000).

Todos estes fatores estão diretamente relacionados com ERO, cujas principais fontes vasculares são a NAD(P)H ox, XO, LOx, COx, e a própria eNOS [WATTANAPITAYAKUL e BAUER, 2001; GRIENGLING e FITZGERALD, 2003(a)] (Figura 8).

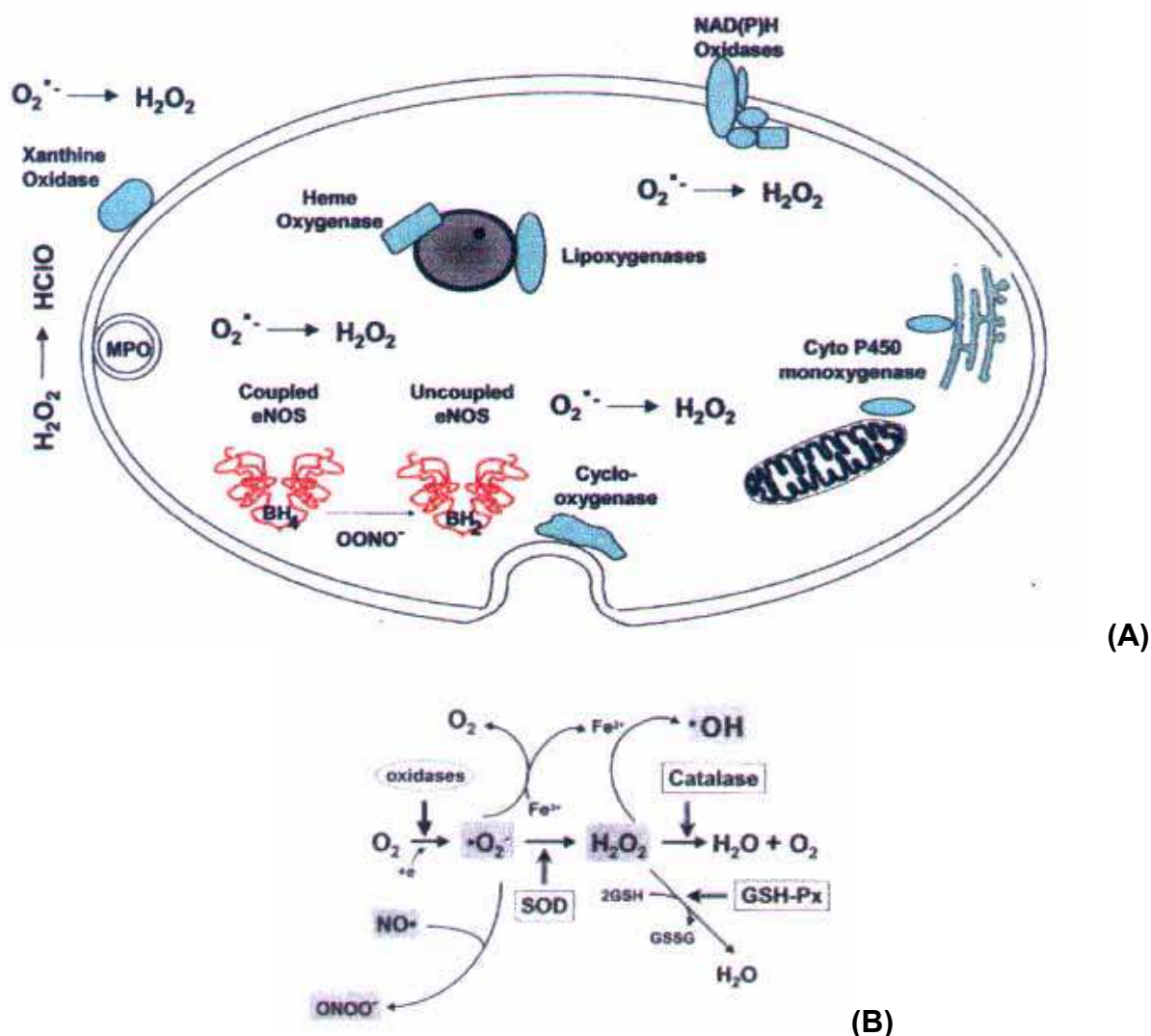


Figura 8. (A) Fontes de ERO na célula vascular (B) Principais ERO encontrados na célula vascular e fontes.

Oxidases convertem O_2 a $O_2^{\bullet-}$ que pode ser dismutado a H_2O_2 por superóxido dismutase (SOD), que por sua vez, pode ser convertido a $H_2O + O_2$ por catalase ou glutatona peroxidase (GSH-Px, GPx), ou, a $\bullet OH$ em presença de metal de transição (Fe^{2+}). $O_2^{\bullet-}$ reage rapidamente com NO^{\bullet} para formar $ONOO^-$ Fonte: extraído de GRIENGLING e FITZGERALD, 2003 (a).

As NAD(P)H ox são enzimas associadas às membranas que catalisam a redução de O_2 usando NADH ou NAD(P)H como doador de elétron (**Equação 3**). Quando ativadas por forças hemodinâmicas e múltiplos agonistas vasoativos destacando-se Ang II (**Figura 9**), como na hipertensão, as NAD(P)H ox vasculares (isoformas encontradas na célula endotelial, fibroblastos e células da musculatura lisa vascular) produzem $O_2^{\bullet-}$ crônica (minutos a horas) e intra e extracelularmente, em contraste com a produção instantânea e apenas extracelular pela NAD(P)Hox do neutrófilo [GRIENGLING *et al.*, 2000; ZALBA *et al.*, 2001; GRIENGLING e FITZGERALD, 2003(a) e (b)].

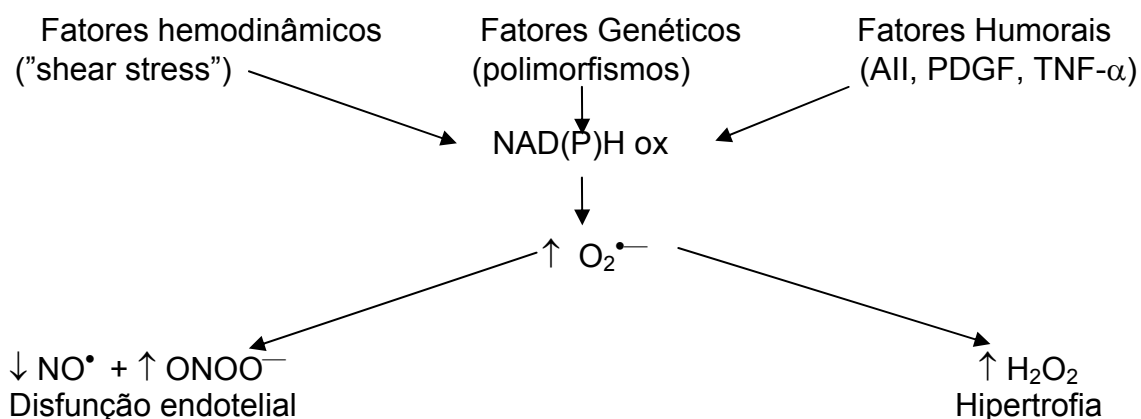


Figura 9. Ativação de NAD(P)Hox e conseqüências funcionais na HAS.

Ang II: Angiotensina II; PDGF: Fator de crescimento derivado de plaquetas; TNF-α: Fator de necrose tumoral. Fonte: ZALBA *et al.*, 2001.

A xantina oxidase (XO) é uma molibdoenzima presente no endotélio vascular, capaz de catalisar a oxidação de hipoxantina e xantina por O₂ para formar O₂^{•-}, H₂O₂ e ácido úrico, e sob condições inflamatórias, como na HAS, a liberação de citocinas aumenta a atividade de XO, o que a torna capaz de produzir grandes quantidades de ERO (WATTANAPITAYAKUL e BAUER, 2001; WASSMANN *et al.*, 2004). O O₂^{•-} produzido por XO é gerado no espaço extracelular (**Figura 8**) e pode diminuir a biodisponibilidade de NO[•] (CAI e HARRISON, 2000; TOUYZ, 2000).

LOx e COx são enzimas que catalisam a conversão de ácido araquidônico em diferentes eicosanóides e leucotrienos, os quais agem como mensageiros alternativos em diferentes reações celulares (PRATICÓ, 2005).

A enzima eNOS é uma citocromo p450 redutase que requer tetra-hidrobiopterina (BH₄), ligada próximo ao seu grupo heme para transferir elétrons a L-arginina e formar citrulina e NO[•]. Na ausência de BH₄ e de L-arginina, eNOS pode produzir O₂^{•-} e H₂O₂. Esse fenômeno tem sido referido como desacoplamento de eNOS (WATTANAPITAYAKUL e BAUER, 2001; WASSMANN *et al.*, 2004). O mecanismo ainda não está muito claro, mas OONO⁻ (derivado da reação entre O₂^{•-} e NO[•]) pode oxidar BH₄ e isto pode levar a um desacoplamento de eNOS *in vivo*. O desacoplamento de eNOS no endotélio pode levar ao estresse oxidativo e disfunção endotelial via três (3) mecanismos: (1) A produção enzimática de NO[•] é diminuída, permitindo que o radical possa reagir e atacar outros alvos celulares; (2) A enzima

produziria $O_2^{\bullet-}$ contribuindo para o estresse oxidativo e (3) É comum que eNOS se torne parcialmente desacoplada de modo que ambos, $O_2^{\bullet-}$ e NO^{\bullet} , sejam produzidos simultaneamente. Sob essas circunstâncias, eNOS pode tornar-se gerador de $OONO^-$ e levar ao aumento dramático do estresse oxidativo (CAI e HARRISON, 2000). O $OONO^-$ pode ser protonado a ácido peroxinitroso (ONOOH) que, em baixas concentrações, pode formar nitrato (NO_3^-) e próton (H^+), entretanto em altas concentrações, o gradiente de ONOOH estabelecido entre a membrana da célula endotelial e o sangue facilita a sua difusão, durante a qual ONOOH sofre quebra homolítica e produz $^{\bullet}OH$ e dióxido de nitrogênio (NO_2^{\bullet}) ou heterolítica produzindo 2 fortes oxidantes: o íon hidroxila (OH^-) e o íon nitronium NO_2^+ . Assim, $O_2^{\bullet-}$, ONOOH, NO_2^{\bullet} , $^{\bullet}OH$ e NO_2^+ , são os maiores componentes do estresse oxidativo gerado pela disfunção endotelial (RADI *et al.*, 2000; MALINSKI, 2005).

Existem outras vias de estimulação do $O_2^{\bullet-}$ que independem da participação das enzimas. Rajagopalan e colaboradores (1996) verificaram estímulo na produção intravascular de $O_2^{\bullet-}$ em ratos, mesmo com a administração de oxipurinol (metabólito da oxidação do alopurinol pela XO que inibe o seu sítio ativo), rotenona (inibidora da síntese de ATP, e, portanto, da cadeia mitocondrial de transporte de elétrons), indometacina (inibidor de COx), L-NAME (éster metílico da N^{ω} -nitro-L-arginina, antagonista competitivo da eNOS) e ácido nor-diidroguaiarético (inibidor da LOx) (**Figura 10**).

Na HAS, a participação das forças mecânicas estimulando a produção de ERO e ERN e modulando a produção de NO^{\bullet} e, portanto, determinando o estresse oxidativo, tem sido bem estabelecida. Forças hemodinâmicas resultantes do fluxo sanguíneo incluem o “shear stress” (força tangencial friccional produzida pelo fluxo sanguíneo sobre a superfície endotelial) e a força pressórica, que age perpendicularmente na parede endotelial, de modo que o estresse mecânico a que os vasos sanguíneos são continuamente expostos implicam numa também contínua remodelação vascular. Sob estímulo fisiológico p. ex., no exercício físico, na regulação do processo de remodelação favorece a perfusão sanguínea adequada para os tecidos e órgãos e envolve apenas a camada endotelial, porém em vasos sob injúria, como na HAS, este processo é danoso e afeta além do endotélio, as células da musculatura lisa vascular. Além disso, o fluxo sanguíneo laminar se altera na HAS e torna-se turbulento: o “shear stress” do cisalhamento laminar tem efeito

predominantemente anti-oxidante estimulando a expressão de eNOS, e das enzimas anti-oxidantes SOD (citossólica e extracelular), GPx, promovendo remodelação fisiológica, vasodilatação etc; em contraste, o shear stress do cisalhamento turbulento ou oscilatório está associado com a produção sustentada de $O_2^{\bullet-}$ (REV. SOCESP, 1996; MALINSKI, 2005; PARAVANCINI e TOUYZ, 2006).

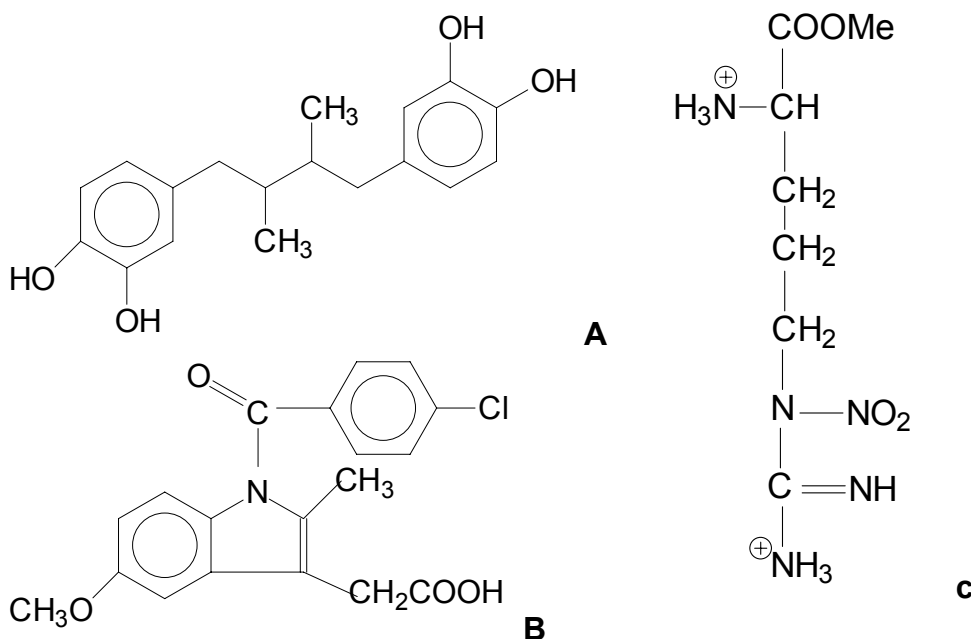


Figura 10. Estrutura do ácido nor-diidroguaiarético (A), indometacina (B) e L-NAME (C).

Apesar de elucidados muitos mecanismos, há necessidade de se estabelecer se pacientes com HAS têm sinais sistêmicos de estresse oxidativo e o impacto deste fenômeno na progressão da doença. Nesse sentido, verificar o estado anti-oxidante e indicadores de dano oxidativo em hipertensos reveste-se de grande importância. Além disso, o reconhecimento da relação entre doenças, processo de envelhecimento e morte celular e estresse oxidativo tem estimulado estudos de marcadores de dano oxidativo e de substâncias anti-oxidantes em sistemas biológicos.

1.5 Biomarcadores do balanço redox em sangue: Métodos gerais de análise e quantificação.

Segundo Zwart e colaboradores (1999) e Labaer (2005), os biomarcadores têm características passíveis de avaliação e mensuração, como indicadores de processos biológicos normais, processos patogênicos ou de resposta farmacológica a uma intervenção terapêutica. Como tal, refletiriam as mudanças em sistemas biológicos relacionadas à exposição ou aos efeitos de xenobióticos, ou outros tipos de fatores ou ainda, a materiais tóxicos (aqui incluiríamos aqueles relacionados a doenças). Eles podem ser classificados, segundo os mesmos autores, como:

- (a) biomarcadores de exposição,
- (b) biomarcadores de efeito,
- (c) biomarcadores de susceptibilidade.

O biomarcador ideal deve reunir as seguintes características:

- 1) mostrar alta especificidade para o efeito de interesse,
- 2) refletir o efeito desde o início,
- 3) ser passível de determinação e análise fáceis e de baixo custo,
- 4) ser Analisado por técnica não invasiva, de alta sensibilidade, no fluido biológico em foco.

Deve existir uma relação bem estabelecida entre a concentração do biomarcador e a exposição ao agente, ao dano induzido e à susceptibilidade pesquisada.

É útil ressaltar que a área de biomarcadores encontra-se em desenvolvimento exponencial e não há qualquer pretensão, de analisá-la em profundidade.

No caso de estresse oxidativo, os marcadores de balanço redox, não invasivos, refletiriam o dano causado pelas ERO e ERN sobre o sistema biológico e a eficiência da defesa anti-oxidante de contrapartida. Em se tratando desses biomarcadores, há um esforço mundial para sua validação multilaboratorial. Trabalhos de colaboração internacional, em andamento, liderados por M. Kadiiska utilizaram modelo murino, após envenenamento por CCl₄, com pesquisa em sangue, plasma e urina de ratos tratados, segundo protocolos bem estabelecidos [KADIISKA *et al.*, 2002; KADIISKA *et al.*, 2005(a); KADIISKA *et al.*, 2005 (b)].

A sistematização, seja em termos da escolha do biomarcador, seja em relação aos métodos de análise ainda necessita de anos de estudos e esforços concentrados.

Nessa revisão, dar-se-á ênfase à caracterização de alguns deles, em sangue humano, e em técnicas de análise mais empregadas para quantificação dos mesmos. Outros fluidos biológicos, como urina e saliva, são também utilizados em tais análises e, até mesmo o próprio ar expirado, que traria informações de produtos voláteis de peroxidação lipídica (ZWART *et al.*, 1999), contudo, eles não fazem parte do escopo do presente trabalho.

O sangue total é constituído de elementos figurados que são os eritrócitos, os leucócitos e as plaquetas ou fatores da coagulação. O plasma constitui-se da parte líquida do sangue separada das células sanguíneas e o soro relaciona-se ao plasma sem os fatores de coagulação, tais como fibrina (BURTIS e ASHWOOD, 2002).

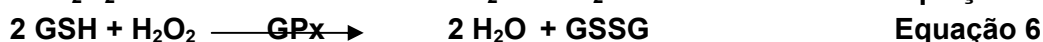
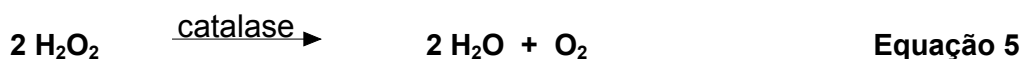
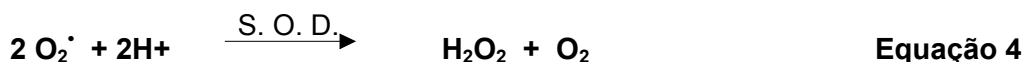
O sangue humano é uma excelente fonte de marcadores *in vivo* de estresse oxidativo, uma vez que nele são transportados e redistribuídos anti-oxidantes e endobióticos modificados por ação de ERO e ERN. O plasma humano é considerado a amostra biológica única, potencialmente mais informativa, já que, obtida de um indivíduo, pode descrever seu estado de saúde no momento da coleta (JACOBS *et al.*, 2005). Pode ser obtido em larga escala, com uma quantidade relativamente grande de proteínas (em mg), disponível para estudo de numerosas condições e estados de saúde (ANDERSON e ANDERSON, 2002).

A análise do balanço redox pode ser feita em soro, e/ou plasma e/ou eritrócitos (hemácias).

O sistema anti-oxidante sanguíneo é classificado em enzimático e não enzimático. O enzimático é representado, principalmente, pelas enzimas anti-oxidantes: a superóxido dismutase (SOD) que catalisa a dismutação do ânion radical superóxido ($O_2^{\cdot-}$) a peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e O_2 (**Equação 4**), a catalase (CAT) que atua na decomposição de H_2O_2 a O_2 e H_2O (**Equação 5**) e a glutaciona peroxidase (GPx), que atua sobre peróxidos em geral, com utilização de glutaciona como co-fator (**Equação 6**).

O sistema anti-oxidante não enzimático é formado por muitas substâncias, com destaque para a glutaciona (GSH), principal composto anti-oxidante intracelular, tocoferóis, ascorbato, ácido úrico e β -caroteno, além de proteínas de transporte de

metais de transição, como a transferrina (transporte do ferro) e ceruloplasmina (transporte do cobre e redução do ferro para ser captado pela transferrina) (HALLIWELL e GUTTERIDGE, 2002). Os metais de transição são potenciais formadores de espécies reativas através da reação com outros compostos, uma vez que têm facilidade em sofrer reações redox. Decorre, daí, a necessidade de serem transportados associados a proteínas, impedindo que essas reações ocorram.



O sistema anti-oxidante enzimático e a glutatona estão presentes em maior quantidade no meio intracelular (**Figura 4**), com utilização do eritrócito para sua análise. O sistema não enzimático está, principalmente, no meio extracelular em plasma e em soro, onde circulam importantes anti-oxidantes, a exemplo das Vitaminas C, E, β -caroteno, etc, bem como biomarcadores do dano causado por ERO e ERN e outros (**Tabela 1**), como o malondialdeído (MDA), e outros derivados da peroxidação lipídica das membranas celulares (**Tabela 2**).

As substâncias envolvidas no binômio anti-oxidante – pró-oxidante caracterizam o ambiente redox biológico e, podem ser quantificadas associando às técnicas bioquímicas tradicionais, técnicas cromatográficas, espectrofotométricas e eletroanalíticas (GHISELLI *et al.*, 2000; POLIDORI *et al.*, 2001; HALLIWELL e GUTTERIDGE, 2002). Tal combinação possibilita relacionar o balanço redox avaliado em indivíduos, com diferentes aspectos demográficos, clínicos e nutricionais, surgindo assim uma importante ferramenta no estudo de fenômenos biológicos vinculados ao estresse oxidativo.

No que se refere aos anti-oxidantes, alguns autores defendem o estudo da capacidade anti-oxidante total (CAOT), ao invés de análise de anti-oxidantes isolados, uma vez que há dificuldade em medir cada anti-oxidante isoladamente e principalmente devido à interação que existe entre eles no plasma ou soro (GHISELLI *et al.*, 2000). Na análise da CAOT, leva-se em conta a ação acumulativa de todos os anti-oxidantes presentes; obtém-se, com ela, um parâmetro integrado, capaz de revelar nuances acerca do delicado equilíbrio redox existente *in vivo*. A medida de CAOT em plasma auxilia na avaliação dos fatores nutricionais,

fisiológicos e ambientais do estado redox em seres humanos (GHISELLI *et al.*, 2000). Por outro lado, a análise de anti-oxidantes ou marcadores de dano, adequadamente escolhidos, isolados, pode facilitar a compreensão do balanço redox específico da situação em estudo, p.ex., o peroxinitrito (ONOO^-) em doença vascular. Outro aspecto é a dualidade das informações obtidas: um aumento da CAOT não é, necessariamente, uma condição desejável (p.ex., verificado em pacientes com insuficiência renal crônica), nem indesejável, uma vez que pode ocorrer quando há uma diminuição na produção de ERO e ERN (p.ex., em ratos submetidos à restrição calórica) (PRIOR e CAO, 1999). O mesmo raciocínio se aplica a um marcador isolado.

1.5.1 Enzimas anti-oxidantes

1.5.1.1 Superóxido dismutase (SOD)

As principais formas de superóxido dismutases (EC 1.15.1.1), encontradas em humanos são a Cu/ZnSOD localizada no citosol, lisossomas, núcleo, espaço entre mitocôndria e outras membranas internas da célula, a MnSOD localizada na mitocôndria (**Figura 4**) e a ECSOD localizada no espaço extra celular (HALLIWELL e GUTTERIDGE, 2002).

A maioria das análises de SOD é realizada, verificando-se a atividade de SOD indiretamente, geralmente, por adição ao eritrócito do sistema xantina - xantina oxidase (**Figura 11**) como fonte de $\text{O}_2^{\cdot-}$ e um composto que seja reduzido pelo $\text{O}_2^{\cdot-}$ (THÉROND *et al.*, 2000; HALLIWELL e GUTTERIDGE, 2002) como, por exemplo, o 2-(4-iodofenil)-3-(4 nitrofenol)-5-cloreto de feniltetrazol (INT, $\text{C}_{19}\text{H}_{13}\text{ClIN}_5\text{O}_2 \cdot x \text{H}_2\text{O}$, M.M. 505,7) (**Figura 11**). O $\text{O}_2^{\cdot-}$ transfere um elétron ao INT (**Figura 11**) e produz formazana detectada em espectrofotômetro a 505 nm. A atividade da enzima é medida a partir do grau de inibição da reação a que o eritrócito foi submetido e os valores são expressos em unidades por grama de hemoglobina (U/g Hb). A inibição da formação do cromógeno é proporcional à atividade de SOD presente na amostra. Nessa técnica, uma inibição de 50% é definida como uma (1) unidade de SOD (MISHA e FRIDOVICH, 1972; MCCORD e FRIDOVICH, 1969; GAETA *et al.*, 2002; NETTO *et al.*, 2004).

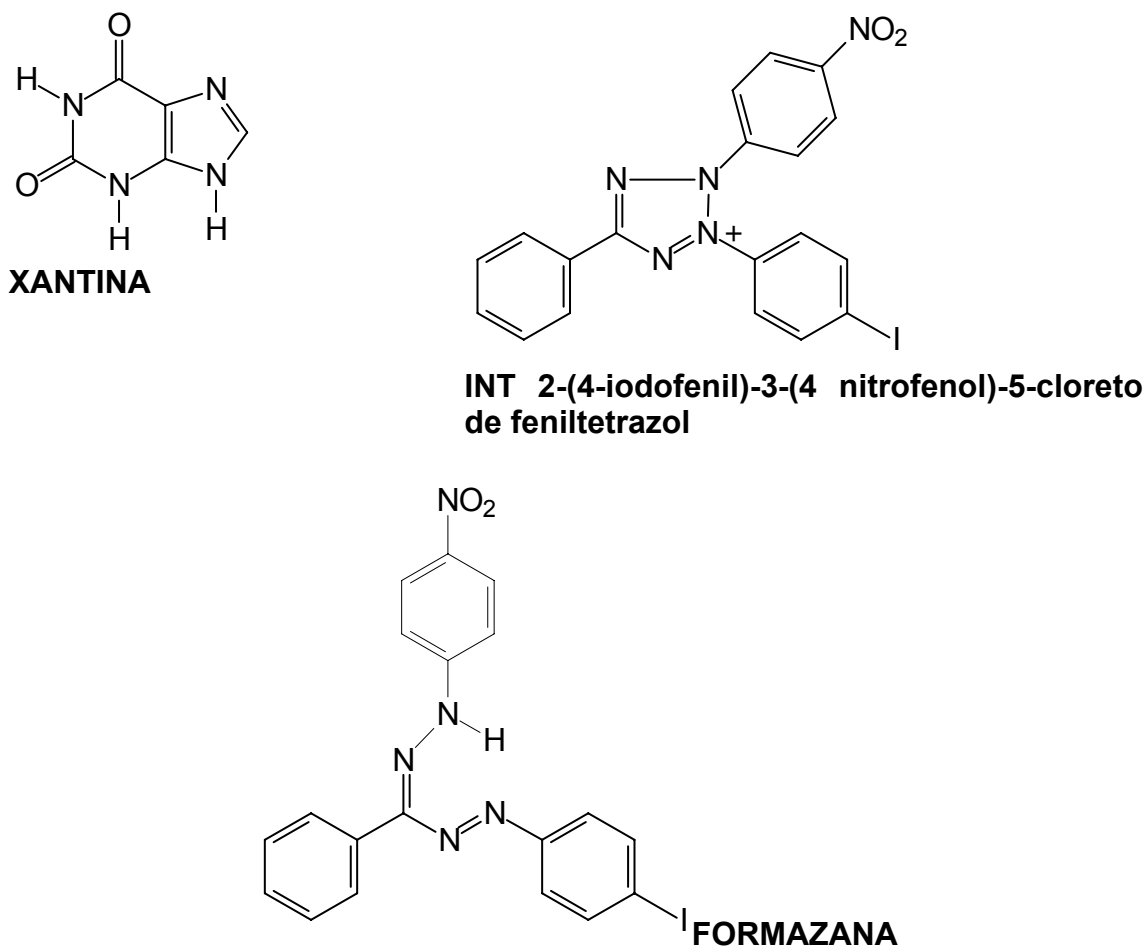


Figura 11. Estruturas das substâncias utilizadas para dosagem de SOD.

1.5.1.2 Catalase (CAT)

A catalase (EC 1.11.1.6), cujo grupo prostético é heme, está localizada no peroxissoma, a principal organela responsável pela desintoxicação celular e pela oxidação de ácidos graxos de cadeia longa, fonte inesgotável de H_2O_2 . A catalase também é encontrada nas mitocôndrias, apenas das células do tecido cardíaco (HALLIWELL e GUTTERIDGE, 2002).

Os dois caminhos mais utilizados para o estudo de sua atividade referem-se à medida do decaimento na concentração de H_2O_2 e da geração do oxigênio (THÉROND *et al.*, 2000; HALLIWELL e GUTTERIDGE, 2002). A leitura do decaimento de H_2O_2 é feita por espectrofotometria no ultravioleta a 240 nm. Os valores de CAT também são expressos em unidades por grama de hemoglobina (U/g Hb). Uma (1) unidade de CAT corresponde à atividade da enzima requerida para o consumo de $1 \mu\text{mol}$ de H_2O_2 em 1 minuto (AEBI, 1984).

1.5.1.3 Glutathione Peroxidase (GPx)

A família de GPx (EC 1.11.1.19) catalisa a redução de H_2O_2 e outros peróxidos a água ou álcool. Constitui-se de quatro (4) formas: GPx 1 ou clássica, encontrada no citosol de todas as células do corpo; GPx 2 ou gastrointestinal específica do trato gastrointestinal; GPx 3 ou plasmática ou extracelular encontrada no fluido do revestimento interno do pulmão e no leite materno, além do plasma em mamíferos e a GPx 4, que atua sobre peróxidos de ácidos graxos nas membranas e lipoproteínas, reduzindo, também, o hidroperóxido timina formado como consequência do ataque das espécies reativas na base timina do DNA (RAYMAN, 2000; CZUCZEIKO *et al.*, 2003). A família de GPx integra o grupo de selenoproteínas, que têm como sítio ativo o selênio (Se), obtido da dieta ligado à metionina em alimentos de origem vegetal (selenometionina) e ligado à cisteína em alimentos de origem animal (selenocisteína), porém, existem enzimas glutathione peroxidases não dependentes de selênio, discutida no item 1.5.1.5. O Se é reconhecidamente um nutriente anti-oxidante, com recomendações de obtenção na dieta considerando sua atividade anti-oxidante e nutricional (AMAYA-FARFAN *et al.*, 2001).

No organismo humano, a selenometionina ocupa o lugar da metionina nas proteínas e a selenocisteína é constituinte das selenoproteínas (selenocisteína é a forma na estrutura primária de todas as selenoproteínas, inclusive GPx) (BURK e LEVANDER, 2002). Uma (1) unidade de GPx corresponde à atividade de enzima necessária para converter um (1) μmol de NAD(P)H a NADP^+ em 1 minuto. Como as demais enzimas anti-oxidantes, os valores de GPx são expressos em unidades por grama de hemoglobina (U/g Hb) (PAGLIA e VALENTINE, 1967).

Um método muito utilizado para avaliar a atividade de GPx em eritrócitos consiste em adicionar ao lisado de hemácias, uma mistura contendo NAD(P)H, GSH, GR, EDTA (agente quelante que tem também a função de impedir a oxidação de GSH a GSSG) e tampão fosfato. Uma alíquota da mistura é adicionada ao hemolisado, mantido em banho-maria a 37 °C durante 1 minuto, sendo em seguida adicionado H_2O_2 ou hidroperóxido orgânico para iniciar a reação (**Figura 12**), que é acompanhada em espectrofotômetro.

O método é similar àquele tradicional de MILLS (MILLS, 1957; MILLS e RANDHAL 1958) que mede a velocidade de oxidação de GSH por H_2O_2 catalisada

por GPx presente no hemolisado. O consumo de GSH é medido, mantendo em concentrações constantes a GR e o NAD(P)H que converte imediatamente a GSSG produzida em GSH. Portanto, a análise de GPx pode ser feita adicionando-se GSH, GR, NAD(P)H e um peróxido para dar início à reação (t-BOOH, p. ex.), sendo monitorada a 340 nm quando o NAD(P)H é convertido a NADP^+ (PAGLIA e VALENTINE, 1967) (**Figura 12**).

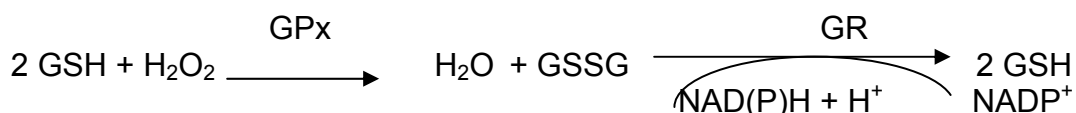


Figura 12. Ciclo de reações da glutatona (GSH)

utilizada para determinação de glutatona redutase (GR) e glutatona peroxidase (GPx), baseada na conversão de NAD(P)H a NADP^+ a 340 nm.

1.5.1.4 Glutatona redutase (GR)

A glutatona redutase (EC 1.6.4.2) é uma flavoproteína dependente de NAD(P)H e da integridade da via das pentoses. É a enzima necessária para a manutenção da glutatona na sua forma reduzida e possivelmente para controlar o estado redox de NADP em tecidos onde GSSG está disponível (PINTO e BARTLEY, 1969). A recuperação de GSH por GR é uma etapa essencial para manter íntegro o sistema de proteção celular, pois baixas concentrações de GSH estão associadas ao estresse oxidativo (SCHAFER e BUETTNER, 2001)

A análise de GR em eritrócito é feita utilizando técnicas espectrofotométricas, em valores de absorvência de 340 nm quando o NAD(P)H é convertido a NADP^+ (**Figura 11**). Uma (1) unidade de GR é definida como 1 μmol de GSSG reduzida por minuto a 30 °C em pH 7,4 (PINTO e BARTLEY, 1969; ARMSTRONG, 1998).

1.5.1.5 Glutatona S-transferase (GST)

A glutatona transferase (EC 2.5.1.18), também chamada de GPx não dependente de selênio, está envolvida no metabolismo de herbicidas, pesticidas e xenobióticos em plantas e animais. Em animais, GST é responsável pela metabolização de clorofórmio, nitratos orgânicos, bromobenzeno, aflatoxina, DDT, naftaleno, paracetamol, etc. A presença de tais xenobióticos em grande quantidade pode diminuir a GSH hepática, uma vez que a conjugação com GSH é a primeira etapa na desintoxicação de xenobióticos, catalisada pela GST, cujos produtos serão

excretados pela urina (os ácidos mercaptúricos). A GST substitui a atividade de redução de peróxidos de GPx, quando esta é insuficiente, como na deficiência de selênio p. ex., embora não atue sobre H_2O_2 (THEROND *et al.*, 2000). A GSH através da GST pode destoxificar aldeídos reativos como malondialdeído, gerados durante a PL (HALLIWELL e GUTTERIDGE, 2002).

A análise de GST é feita utilizando técnicas espectrofotométricas semelhantes a GPx e de GR em valores de absorvância de 340 nm quando o NAD(P)H é convertido a $NADP^+$ (**Figura 11**), porém, sua determinação só pode feita em plasma, uma vez que no eritrócito são encontradas apenas selenoproteínas, enquanto que no plasma existe uma proporção de 80% de proteínas selênio dependentes e 20% de proteínas selênio independentes (ABDALLA, 1993; BECKETT e HAYES, 1993; ARMSTRONG, 1998; THEROND *et al.*, 2000; KEDZIDORA-KORNATOWSKA *et al.*, 2004). O fato de GST não atuar sobre H_2O_2 e a sua delimitação, em plasma, considerando o sangue como o fluido biológico fonte para análise, permite otimizar as condições de determinação.

Conforme citado, a análise de enzimas anti-oxidantes, exceto GST é comumente realizada em eritrócitos (ARMSTRONG, 1998; THÉRON D *et al.*, 2000) o que requer o hemograma ou eritrograma dos indivíduos estudados e aponta para a adoção da unidade de enzima expressa em “unidade de enzima por grama de hemoglobina”.

1.5.2 Sistema anti-oxidante não enzimático:

Constituem um grupo de anti-oxidantes que podem ser divididos em compostos produzidos *in vivo* como é o caso da glutathiona, da ubiquinona e do ácido úrico e em compostos obtidos diretamente da dieta tais como vitaminas E, C e β -caroteno, além de outros anti-oxidantes de baixa massa molecular relativa.

1.5.2.1 Glutathiona

A Glutathiona (GSH) ($C_{10}H_{17}N_3O_6S$, M.M. 307 g mol^{-1}) é um tripeptídeo (L- γ -glutamil-L-cisteinilglicina) que exerce funções essenciais na célula, destacando-se a sua função como cofator da família de enzimas glutathiona peroxidases (GPx), em

que desempenha papel protetor contra o estresse oxidativo, com sua oxidação a dissulfeto da glutathiona (GSSG) ($C_{20}H_{32}N_6O_{12}S_2$, M.M. 612,6 g/mol) (**Figura 13**). É um tampão sulfidrílico que mantém os resíduos cisteinila da hemoglobina e de outras proteínas do eritrócito, no estado reduzido. A GSH é o único tiol não proteico presente em espécies aeróbias e seu papel intracelular anti-oxidante inclui a desintoxicação de xenobióticos e de ERO. A falha nessa função resulta na formação de meta-hemoglobina e consequente incapacidade do eritrócito em transportar oxigênio, além de causar uma variação na forma do eritrócito impedindo a sua passagem para órgãos vitais (SIES, 1999; ROVER JÚNIOR *et. al.*, 2001).

O preparo das amostras é muito importante para minimizar a atividade de γ -glutamyl transpeptidase (que quebra ligações γ -glutamylpeptídeo de GSH), a redução de GSSG por GR ou a oxidação de GSH. Muitos procedimentos são desenvolvidos para inibir estas reações enzimáticas e não enzimáticas: acidificação, utilizando, por exemplo, ácido perclórico para inibir tanto a γ -glutamyl transpeptidase quanto a GR, e o uso de quelantes como o ácido etilenediaminotetracético (EDTA), que limita a oxidação de GSH (AKERBOOM e SIES, 1981).

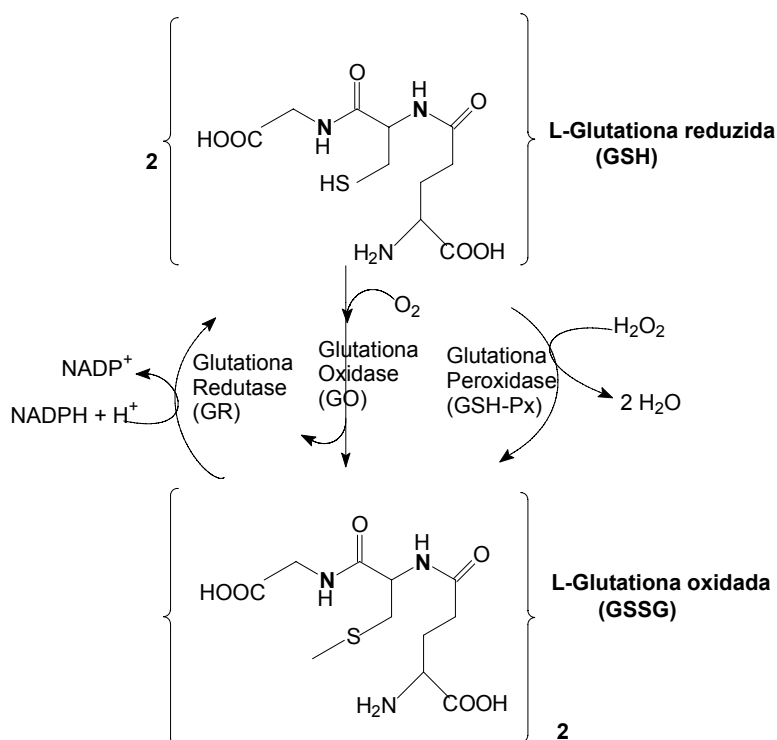
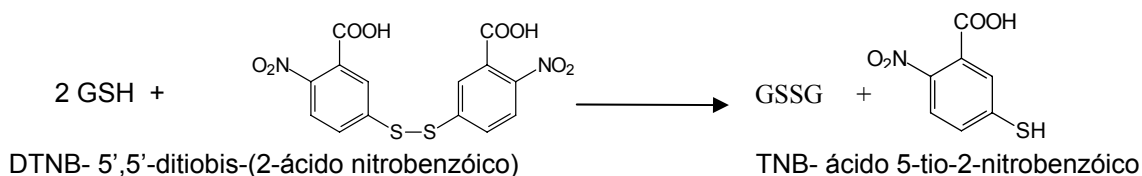


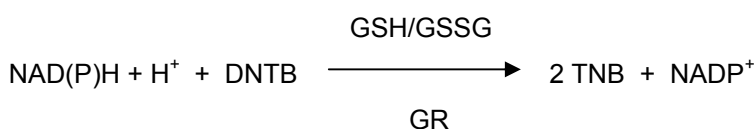
Figura 13. Ciclo de Interconversão de glutathiona

Interconversão de glutathiona nas suas formas reduzida (GSH) e oxidada (GSSG) pela ação das enzimas glutathiona peroxidase (GPx), glutathiona oxidase (GO) e glutathiona redutase (GR). Fonte: Extraído de ROVER JR *et al.*, 2001.

A concentração de glutatona total (GSH + GSSG) pode ser medida usando 5',5'-ditiobis-(2-ácido nitrobenzóico) (DTNB, $C_{14}H_8N_2O_8S_2$, M.M. 396,3 g/mol) e GR. A velocidade de redução de DTNB é verificada espectrofotometricamente a 412 nm, comprimento de onda relativo à absorção do produto reduzido, o ácido 5-mercaptop-2-nitrobenzóico (TNB), ou sais correspondentes (**Figura 14**). O mesmo procedimento pode ser utilizado para a determinação de GSSG acompanhando a mudança de absorvência em NAD(P)H a 340 nm. Entretanto a GSH deve ser derivatizada com vinilpiridina, que não interfere na GR (THÉROND *et al.*, 2000) ou como N-etilmaleimidina (NEM) (TIETZE, 1965; AKERBOOM e SIES, 1981; ARMSTRONG, 1998). Uma outra forma de determinar a concentração de glutatona nas hemácias é descrita no trabalho de Calvo-Marzal e colaboradores (2004), onde se utilizam eletrodos de pasta de carbono modificados com Tetratiofulvaleno – Tetracianoquinodimetano (TTF-TCNQ).



(A)



(B)

Figura 14. Reações usadas para detecção de glutatona

(A) Reação enzimática DTNB [5',5'-ditiobis-(2-ácido nitrobenzóico)] e do produto da sua redução, TNB (ácido 5-tio-2-nitrobenzóico), sob ação de GSH, observado em λ 412 nm. (B) Reação não enzimática para detecção de NADP a 340 nm, ilustrado também nas **Figura 12**.

1.5.2.2 Razão GSH/GSH + GSSG

O sistema glutatona GSSG/2GSH é considerado o maior tampão redox tiol/dissulfeto da célula, que atua utilizando o sistema $\text{NADP}^+/\text{NAD(P)H}$. A concentração de GSH é elevada no citosol (1 a 11 mM), núcleo (3 a 15 mM) e mitocôndria (5 a 11 mM), sendo o maior composto redox ativo presente nesses compartimentos (VALKRO *et al.*, 2006). O ambiente reduzido é necessário para as

atividades fisiológicas da célula, uma vez que GSH participa da desintoxicação de xenobióticos, é cofator de uma grande família de glutathione peroxidases, e determina o curso dos processos de proliferação e diferenciação celular. Qualquer desbalanço neste sistema está diretamente relacionado a um estado patológico, ainda que em nível molecular, não detectado clinicamente (THÉRON *et al.*, 2000; SCHAFFER e BUETTNER, 2001; HALLIWELL e GUTTERIDGE, 2002). Nesse sentido, a dosagem em sangue de GSH e GSSG de modo a estabelecer a relação quantitativa entre ambas, é mais adequado do que a dosagem isolada de GSH, uma vez que revela o balanço redox.

A determinação simultânea de GSSG e GSH pode ser feita em HPLC, em cromatografia de troca iônica com detecção eletroquímica, sem derivatização. Após desproteinização da amostra e centrifugação, o sobrenadante é injetado no sistema HPLC para separação de GSH e GSSG. Os dois analitos são quantificados em função do potencial aplicado na cela eletroquímica (eletrodo coulométrico) e a corrente gerada pela reação redox é medida. A detecção coulométrica, além de elevada sensibilidade (faixa de pmol), pode ser usada em uma matriz complexa, sem necessidade de derivatização.

1.5.2.3 Coenzima Q (CoQ)

A Coenzima Q₁₀ (CoQ) ou Ubiquinona é o único lipídio endogenamente sintetizado através da via do mevalonato que apresenta função redox (TURUNEN *et al.*, 2004). É um AO que desempenha papel central na cadeia respiratória mitocondrial, na cadeia de transporte de elétrons extra-mitocôndrica, participa da regulação da permeabilidade, diminui a oxidação de proteínas de membrana, previne a oxidação do DNA e impede a disfunção endotelial, provavelmente, por aumentar a disponibilidade de NO[•]. Sua forma anti-oxidante, o ubiquinol (CoQH₂), produto da redução de CoQ inibe a iniciação e a propagação da peroxidação lipídica, com conseqüente impedimento da formação de ROO[•] (radical peroxila) e regenera a vitamina E do radical tocoferila (TANG *et al.*, 2001; TURUNEN *et al.*, 2004).

CoQ é transportada na circulação ligada a lipoproteínas, sendo 60% associada com LDL, 25% com HDL e 15% com outras lipoproteínas. A atividade

anti-oxidante de CoQH₂ depende não somente da sua concentração total, mas também do seu estado redox, ou seja, da proporção de CoQH₂ em relação a CoQ total (TURUNEN *et al.*, 2004).

A ubiquinona tanto na forma reduzida (CoQH₂), como na forma oxidada (CoQ), pode ser quantificada em plasma humano obtido de sangue coletado em heparina, centrifugado e armazenado em -70° C, 30 minutos após a coleta. A leitura é feita em HPLC com o plasma tratado com 1-propanol para dissociação de CoQ e α Toc da lipoproteína e com a adição do análogo dietoxilado da CoQ, como padrão interno. O sobrenadante é injetado diretamente na câmara de injeção do HPLC e CoQH₂ e CoQ são determinadas (ARMSTRONG, 1998; THÉROND *et al.*, 2000).

1.5.2.4 Ácido Úrico

O ácido úrico (URH₃) deriva do metabolismo das purinas e é produzido pela oxidação de hipoxantina e xantina pela xantina oxidase (XO) e xantina desidrogenase (XD) (**Figura 15**). Na maioria das espécies, a enzima peroxissômica urato-oxidase converte urato a alantoína, que depois é convertida a alantoato e depois a gloxilato e uréia, todos, produtos mais solúveis em água que o urato. Entretanto, humanos e outros primatas não contém a urato-oxidase, daí o urato se acumula no plasma e é excretado na urina. Em pH fisiológico, o ácido úrico é ionizado a urato (UrH₂⁻) comportando uma única carga negativa (pKa 5,4). O urato tem solubilidade limitada em água e sua concentração encontra-se muito próxima do seu limite de solubilidade (300 μ M); por isso, o excesso na sua produção leva à formação de cristais, o que ocorre na gota, tratada com alopurinol, inibidor de XO/XD. Oxidantes fortes tais como \cdot OH, podem oxidar o ânion urato (UrH₂⁻) ao radical urato, que é ionizado (pKa 3,1), gerando o ânion radical urato (UrH \cdot). Esse é estável graças ao fenômeno de ressonância que permite a dispersão de sua carga negativa. O urato também reage com radicais peroxila (ROO \cdot) antes de o mesmo penetrar a membrana celular e iniciar o dano e, com dióxido de nitrogênio (NO₂ \cdot), para formar o ânion nitroxila NO₂⁻ e, por fim, atua como anti-oxidante através de sua capacidade de quelar metais de transição (**Figura 15**), (**Equação 7**). O anion radical urato (UrH \cdot) pode reagir com ascorbato (Asch⁻), regenerando o urato (HALLIWELL e GUTTERIDGE, 2002).

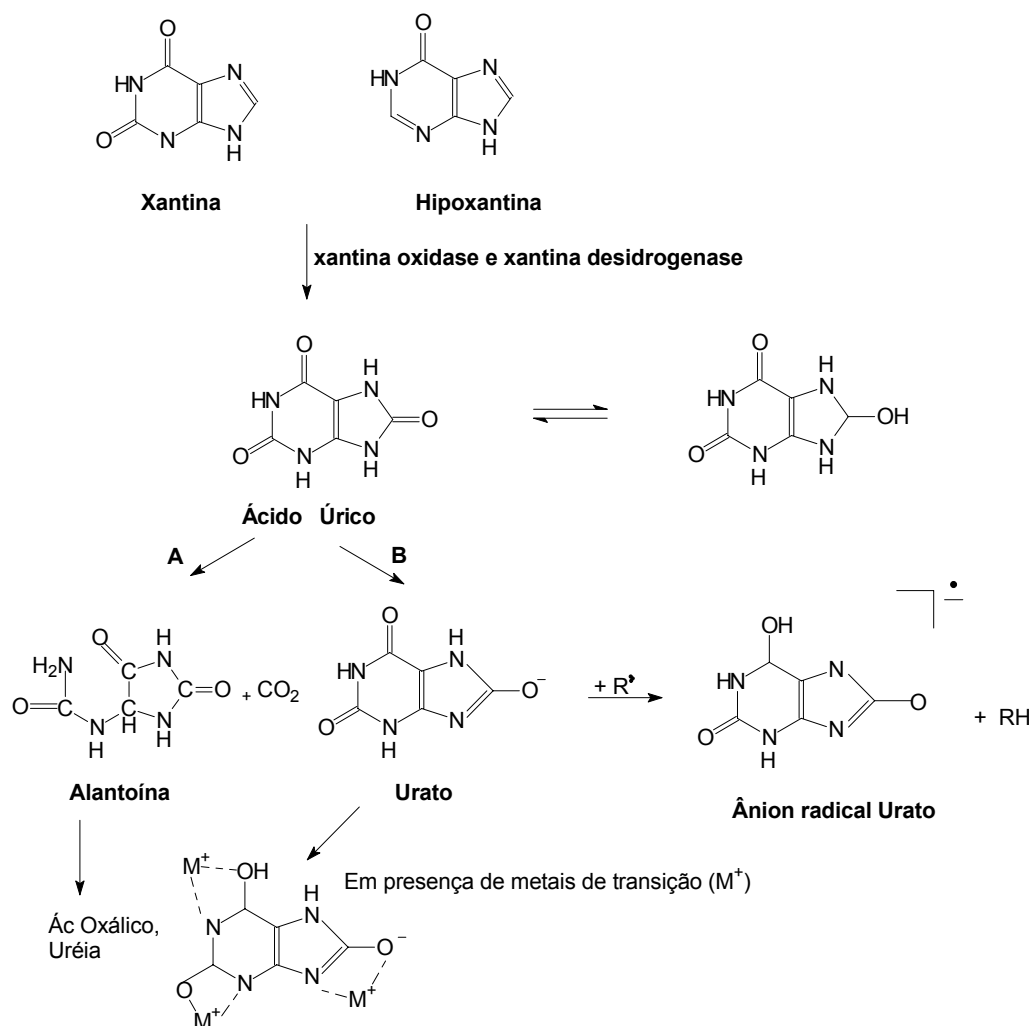
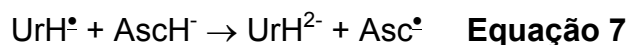


Figura 15. Via metabólica de formação e degradação do Ácido Úrico.

Na maioria das espécies a enzima urato oxidase (UOx) converte ácido úrico a alantoína (via A) que, por sua vez, é convertida a ácido oxálico e uréia. Em humanos, devido a ausência de UOx, o ácido úrico é dissociado a urato em pH fisiológico, o que favorece sua ação anti-oxidante diante de um radical (R[•]), formando assim o ânion radical urato (via B) que poderá ser reciclado por ascorbato p.ex., a urato.



O ácido úrico apresenta atividade anti-oxidante significativa e sua concentração no plasma é maior que a de outros anti-oxidantes tais como as vitaminas C e E (POLIDORI *et al.*, 2001).

A análise de urato pode ser feita em plasma ou em soro, de preferência fresco, em heparina ou EDTA, pelo método enzimático automatizado, utilizando kits

para dosagem através da diminuição da absorbância, após tratamento com uricase. O ácido úrico, que absorve em 293 nm, ao ser convertido a alantoína pela uricase apresenta diminuição na sua absorvência (BURTIS e ASHWOOD, 2002).

1.5.2.5 Vitamina E ou Tocoferol

O termo Vitamina E é a designação comum de duas diferentes famílias de compostos que ocorrem na natureza: os tocoferóis e os tocotrienóis, que exibem, qualitativamente, a atividade biológica do α -tocoferol, que é o composto mais potente e geralmente a forma predominante. Estruturalmente, tocoferóis e tocotrienóis diferem apenas na cadeia lateral e ambos se subdividem em α , β , γ e δ , dependendo do número e posição do grupo metila no anel cromanol (THERIAULT *et al.*, 1999).

O tocoferol é o anti-oxidante lipossolúvel que atua ao bloquear a etapa de propagação da peroxidação lipídica dos ácidos graxos polinsaturados das membranas e lipoproteínas. Captura o radical peroxila (RO_2^*) resultante, com formação do radical tocoferila, que será regenerado por ascorbato, glutathiona ou ubiquinol a tocoferol, fechando o ciclo (BUETTNER, 1993). O tocoferol pode ser medido em plasma, em soro, em plaquetas e em eritrócitos, por técnicas cromatográficas, sendo a HPLC em fase reversa, a técnica de escolha, com sistema de detecção no ultravioleta, (cujo comprimento de onda dependerá do solvente), por espectrofluorimetria ou ainda por métodos eletroquímicos (THÉROND *et al.*, 2000). Por ser lipofílico, o tocoferol requer uma etapa pré-analítica de extração com hexano, que é realizada ao abrigo da luz e sob refrigeração.

1.5.2.6 Vitamina C ou Ascorbato

O ácido ascórbico é essencial ao homem, pois não pode ser sintetizado a partir da glicose que é o seu precursor, como ocorre em plantas e na maioria dos animais. Em sistemas biológicos, em pH fisiológico (7,4), 99,95% da vitamina C ($AsCH_2$) encontra-se na forma de ascorbato ($AsCH^-$), que é a forma que atua como anti-oxidante, ao doar um H^* ou $[H^+ + e^-]$ para um radical (**Figura 16**). O ascorbato

(AsC^{H-}) atua como anti-oxidante sobre ERO e ERN, em ambiente biológico aquoso, resultando na formação do ânion radical semi-desidroascorbato (Asc[•]), ou ascorbila, pouco reativo. Atua eficientemente sobre o ânion-radical superóxido (O₂^{-•}), o peróxido de hidrogênio (H₂O₂), o hipoclorito (ClO⁻), os radicais hidroxila ([•]OH) e peroxila (ROO[•]). O ascorbato pode atuar diretamente nas membranas celulares, por impedir a iniciação da peroxidação lipídica ou, indiretamente, por regenerar a vitamina E, que atua como anti-oxidante na face lipofílica da membrana (**Figura 17**). Além disso, pode regenerar o ânion radical urato a partir de urato fechando o ciclo de atuação anti-oxidante do mesmo, como, anteriormente, discutido (HALLIWELL e GUTTERIDGE, 2002).

A detecção de vitamina C em plasma ou em soro requer precaução, uma vez que é um composto facilmente oxidável. Uma vez que o ascorbato é facilmente oxidável em pH neutro (fisiológico) ou em pH alcalino, é recomendável a acidificação do plasma preferencialmente após sua separação por centrifugação, adicionando ácido tricloroacético ou ácido metafosfórico ou ácido oxálico isolado ou em associação com ácido tricloroacético. HPLC é a técnica mais comumente usada. Recentemente KATEPE (2004), desenvolveu uma técnica para detecção simultânea de ascorbato e malondialdeído em soro humano utilizando HPLC com detecção no UV.

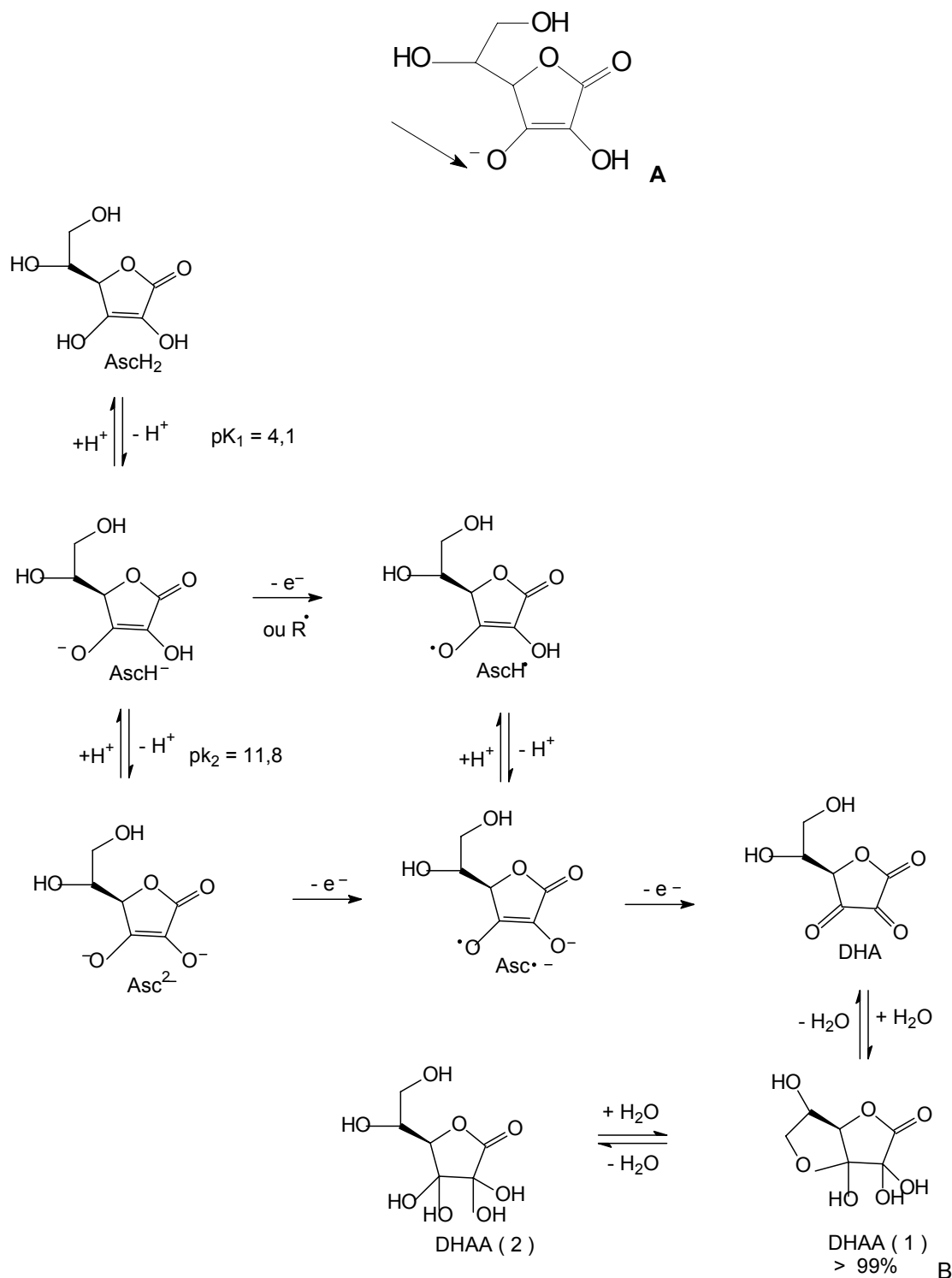


Figura 16. Estrutura Química da Vitamina C e formas encontradas em pH fisiológico

(A) Estrutura química da vitamina C sob a forma de ascorbato (Asch⁻). A seta indica o sítio de oxidação de Asch⁻. (B) Formas encontradas da vitamina C em pH fisiológico (7,4):

99,95% na forma Asch⁻, 0,05% na forma protonada de ácido ascórbico (Asch₂) e 0,004% como diânion desidroascorbato (Asc²⁻). O ascorbato atua como anti-oxidante ao doar um átomo de hidrogênio (H[•] ou H⁺ + e⁻), formando o ânion-radical ascorbilo (Asc^{•-}). Fonte: Adaptado de

www.medicine.uiowa.edu/FRRB/virtualschool/virtual.html.

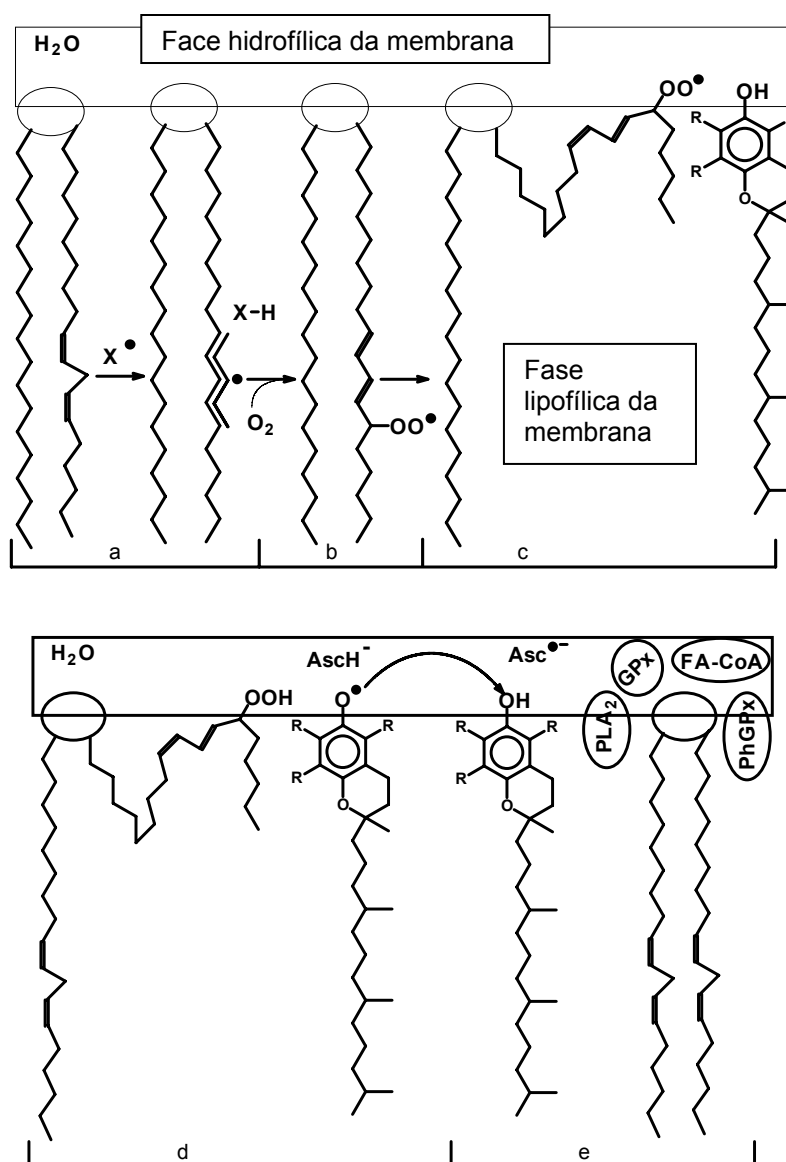


Figura 17. Ação anti-oxidante das vitaminas E e C na peroxidação lipídica das membranas celulares

(a) Abstração de H[•] do lípido da membrana celular, devido ao ataque do radical X[•]. (b) Em presença de O₂[•], ocorre formação do radical peroxila R-OO[•]; (c e d)

A vitamina E hidrogena o radical peroxila; (d e) O ascorbato (AscH⁻) pode reciclar vitamina E; (e) Enzimas PLA₂ (Fosfolipase A₂) GPx (Glutationa Peroxidase) PhGPx (Fosfolipídio glutaciona peroxidase) em presença de FA-CoA (Fatty Acyl -Acilgraxo – Coenzima A) podem reparar o dano ao ácido graxo. Fonte: Extraído de BUETTNER,1993.

1.5.2.7 β-Caroteno

Carotenóides são pigmentos intensamente coloridos, lipossolúveis, sintetizados por plantas e microrganismos, presentes em muitos alimentos, particularmente frutas, vegetais e peixes. Existem mais de 600 tipos de carotenóides

e apenas 10% têm atividade pró-vitamina A, que é a capacidade de conversão dos carotenóides em retinol (DAVIES, 2000). As propriedades anti-oxidantes dos carotenóides estão associadas com sua capacidade de capturar radicais e outras espécies, oxigênio singlete, em baixas concentrações e em baixa pressão parcial de oxigênio, tais como aquelas da maioria dos tecidos sob condições fisiológicas (EL-AGAMEY, 2004), desativando oxigênio singlete ou seqüestrando radical peroxila, reduzindo assim a oxidação de DNA e lipídios das membranas celulares. No entanto, as funções anti-oxidantes de carotenóides, na prevenção de doenças não estão definitivamente estabelecidas, com muita controvérsia na literatura.

O método mais comumente adotado para analisar carotenóides em soro humano é HPLC em fase reversa. Para tal análise, a amostra de sangue deve ser coletada sem anticoagulante, uma vez que EDTA (ácido etilenodiaminotetraacético), oxalato e citrato reduzem a concentração de β -caroteno porque catalisam as reações de isomerização ou de oxidação do mesmo. Além disso, todas as etapas requerem proteção contra a luz (THÉROND *et al.*, 2000). As proteínas devem ser previamente desnaturadas por exposição ao ácido perclórico; o β -caroteno é subseqüentemente extraído com mistura de acetato de etila – tetraidrofurano (1:1) e nenhuma etapa de evaporação é requerida. A separação é obtida usando eluição isocrática em uma coluna C_{18} com detecção em ultravioleta a 436 nm (NIRENBERG, 1985). A análise pode ser feita com cada um dos tipos de carotenóides ou em termos da concentração total de carotenóides, que podem ser extraídos também com solvente orgânico, geralmente hexano, e detectados medindo a absorvência a 453 nm (THÉROND *et al.*, 2000).

1.5.2.8 Proteínas de transporte de metais de transição

Os cátions Fe^{3+} e Cu^{2+} dos metais de transição Fe e Cu são essenciais ao organismo humano para a síntese de muitas enzimas e proteínas envolvidas na respiração, transporte de O_2 , formação de óxido nítrico e outras reações redox (p. ex. oxidação de adrenalina, noradrenalina e ascorbato). A sua habilidade para transferência de elétrons os caracteriza como potentes pró-oxidantes uma vez que têm o poder de converter H_2O_2 em $\cdot OH$ (**Tabela 1**). Além disso, são potentes

catalisadores de reações de auto-oxidação e decompõem peróxidos lipídicos a radicais peroxila e alcoxila, muito reativos.

Esses cátions podem ser dosados sob a forma livre, ou ligado a sua proteína de transporte. Esta última forma é a mais adequada uma vez que os mesmos circulam no plasma, em sua quase totalidade, ligados às proteínas transferrina e ceruloplasmina, respectivamente (**Figura 18**) (HALLIWELL e GUTTERIDGE, 2002).

1.5.2.8.1 Transferrina

A transferrina é uma betaglobulina sintetizada pelo fígado, responsável pelo transporte de ferro no plasma. O Fe obtido da dieta pode ser Fe^{3+} (férico) ou Fe^{2+} (ferroso). Para entrar na célula duodenal é necessário que o Fe esteja na forma reduzida. No interior do eritrócito é oxidado a Fe^{3+} (férico) e depois reduzido a Fe^{2+} (ferroso) para circular no plasma, inicialmente ligado a ceruloplasmina, que, novamente, o oxida para que ele seja captado pela transferrina e daí transportado para o fígado para ser armazenado e distribuído para as células (**Figura 18**) (TURNLUND, 2002).

A transferrina pode ser medida diretamente em soro fresco ou refrigerado (de 2 °C a 8 °C) por até 7 dias ou congelado a -20 °C, por até 3 meses, coletado em heparina ou EDTA. A análise é feita por turbidimetria, com utilização de kits comerciais em espectrofotômetro cuja leitura é feita a 37 °C em comprimento de onda de 340 nm. A transferrina pode também ser medida indiretamente pelo cálculo que utiliza a Capacidade Total de Ligação do Ferro – CTLF (ou TIBC – Total Iron Binding Capacity), que se refere à quantidade total de ferro que a transferrina é capaz de ligar. A CTLF é determinada medindo-se o excesso de ferro no sobrenadante de uma quantidade conhecida de ferro adicionado ao soro para saturar a transferrina, o qual é separado após precipitação da proteína. De posse de tal valor calcula-se a transferrina sérica (TS) a partir da fórmula (VASCONCELOS, 2003).

$$\text{TS (mg/100 mL)} = (0,8 \times \text{CTLF}) - 43$$

1.5.2.8.2 Ceruloplasmina

A ceruloplasmina ou ferroxidase I é uma α_2 -glicoproteína que transporta cerca de 90% a 95% do cobre total no plasma (FOX *et al.*, 1995). O Cu^{2+} obtido da dieta, é quelado pelo aminoácido histidina e absorvido no duodeno. É transportado ao fígado ligado à albumina e lá é incorporado na proteína ceruloplasmina. O Cu^{2+} ligado a ceruloplasmina é então distribuído para as células. Além do transporte de Cu^{2+} , a ceruloplasmina oxida Fe^{2+} a Fe^{3+} para subsequente transferência do ferro para a transferrina, daí a sinonímia de ferroxidase (**Figura 18**) (FOX *et al.*, 1995).

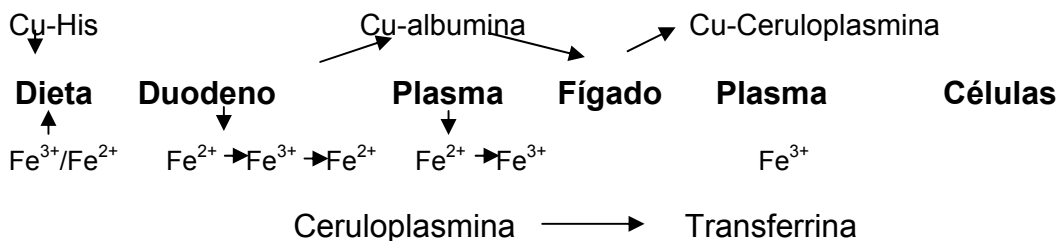
A ceruloplasmina, entre outras proteínas, é alvo do ataque, do ácido peroxinitroso (ONOOH), que existe em equilíbrio com o ONOO^- (ONOOH, $\text{pK}_a=6,8$), portanto sob condições biológicas ambas as espécies estão presentes e sua razão depende do pH local. Isto é relevante, uma vez que essas espécies possuem diferentes reatividades e propriedades difusionais (RADI *et al.*, 2001; HALLIWELL e GUTTERIDGE, 2002).

A determinação de ceruloplasmina humana está baseada na reação entre esta enzima como antígeno e o anti-soro específico obtido em *kits* disponíveis no mercado. O princípio do método é a reação antígeno (a enzima presente no soro) com o anticorpo contido no *kit*. Essa reação dá lugar a um complexo insolúvel produzindo uma turbidez que pode ser lida espectrofotometricamente. Portanto, sua análise é feita por imunoturbidimetria, a $37\text{ }^\circ\text{C}$, em soro fresco utilizando-se espectrofotômetro, em 340 nm. A ceruloplasmina pode ser medida diretamente em soro fresco ou refrigerado a $2\text{ }^\circ\text{C}$ a $8\text{ }^\circ\text{C}$ por até 2 dias ou congelado a $-20\text{ }^\circ\text{C}$ por até 3 meses (BURTIS e ASHWOOD, 2002).

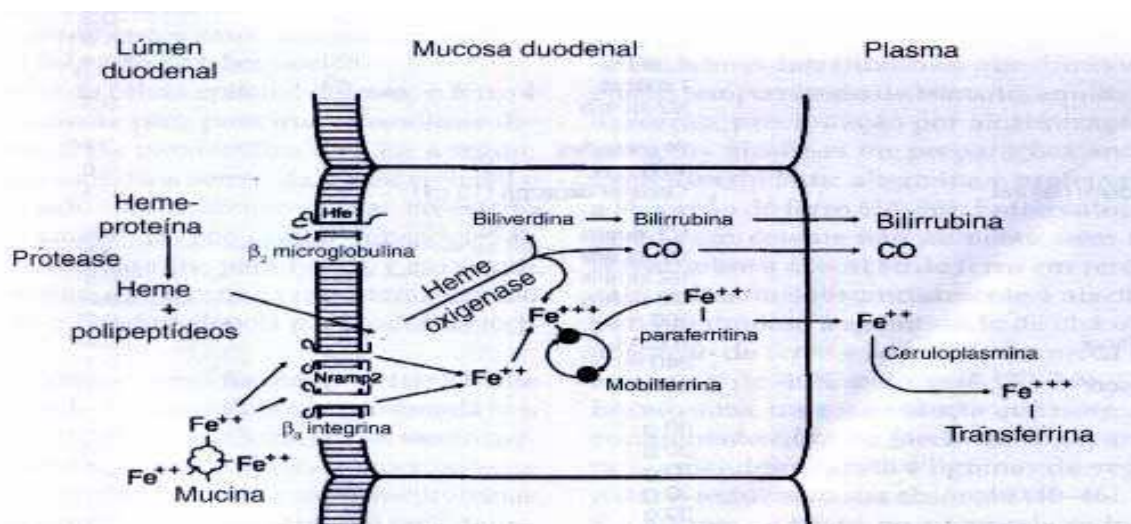
1.5.3 Avaliação de dano oxidativo em componentes celulares

As macromoléculas reagem com ERO e ERN, com a produção de diversos marcadores de dano oxidativo (**Tabela 2**), que podem ser identificados, em sangue humano, entre outros fluidos biológicos. A presente revisão dará ênfase à análise de marcadores da peroxidação lipídica com atenção particular a MDA, marcadores de

oxidação de proteínas, com ênfase em derivados contendo grupos carbonila e fará um breve comentário de marcadores de espécies reativas de nitrogênio.



A



B

Figura 18. (A): Resumo do metabolismo do cobre (Cu) e Ferro (Fe).

Cu é obtido da dieta ligado a histidina (HIS), absorvido e transportado ligado à albumina para armazenamento no fígado, aonde é incorporado a ceruloplasmina para circulação no plasma e distribuição para as células. (B): Esquema do mecanismo de captação do Fe pela célula epitelial duodenal, seu transporte para o plasma e atuação ferroxidase da ceruloplasmina (extraído de FAIRBANKS, 2003): Fe é obtido da dieta sob a forma Fe²⁺ e Fe³⁺. Este último é reduzido a Fe²⁺ para absorção, sendo oxidado e novamente reduzido no interior da célula duodenal e liberado para o plasma através da paraferitina, aonde é captado pela ceruloplasmina (função ferroxidase) e novamente oxidado para captação pela transferrina e subsequente transporte para as células (A).

Conforme mencionado, há um esforço mundial para validação de biomarcadores de estresse oxidativo [KADIISKA *et al.*, 2000; KADIISKA *et al.*, 2005(a); KADIISKA *et al.*, 2005(b)]. No momento, no entanto, não há consenso sobre qual o método mais útil, mais confiável, mais acurado, ou específico para os diferentes tipos de dano oxidativo. Não há possibilidade, no momento de fazer a comparação direta entre os métodos, usando amostras idênticas, daí, a extrema dificuldade de obtenção de valores de referência absolutos para marcadores

específicos em sistemas vivos [KADIISKA *et al.*, 2000; KADIISKA *et al.*, 2005(a); KADIISKA *et al.*, 2005(b)]. Enquanto os trabalhos de sistematização prosseguem, é útil conhecer os principais marcadores e os métodos mais utilizados para sua quantificação.

1.5.3.1 Marcadores de peroxidação lipídica

A importância do dano oxidativo causado por ERO e ERN em lipídios é motivo de discussões na busca do melhor marcador em fluidos biológicos, uma vez que produtos numerosos e complexos derivam da peroxidação lipídica. Eles são classificados em primários (os hidroperóxidos lipídicos) e os secundários que derivam da β -ruptura dos hidroperóxidos lipídicos (**Figura 5**).

1.5.3.1.1 Malondialdeído (MDA)

O malondialdeído é um produto secundário da peroxidação lipídica, derivado da β -ruptura de endociclicização de ácidos graxos polinsaturados com mais de duas duplas ligações, tais como ácido linoléico, araquidônico e docosaexanóico (THÉROND *et al.*, 2000; GIAMMARIOLI *et al.*, 1999; MCCALL e FREI, 1999). Atualmente, ele é considerado um candidato potencial para ser escolhido como um biomarcador geral de dano oxidativo em plasma. O MDA foi o foco de atenção da peroxidação lipídica durante muitos anos pelo fato de poder ser medido livre, utilizando o ácido tiobarbitúrico (TBA). O MDA reage com TBA e forma um cromógeno rosa fluorescente cuja absorção ocorre em 532 nm (THÉROND *et al.*, 2000) (**Figura 19**). Considerando-se que o teste não é específico para MDA, pois outros aldeídos participam da mesma reação, a técnica utilizando HPLC com detecção por UV, recentemente desenvolvida (KATEPE, 2004) em soro humano, revela-se mais específica. Nessa técnica, o soro é acidificado para liberar o MDA ligado ao grupo amino de proteínas.

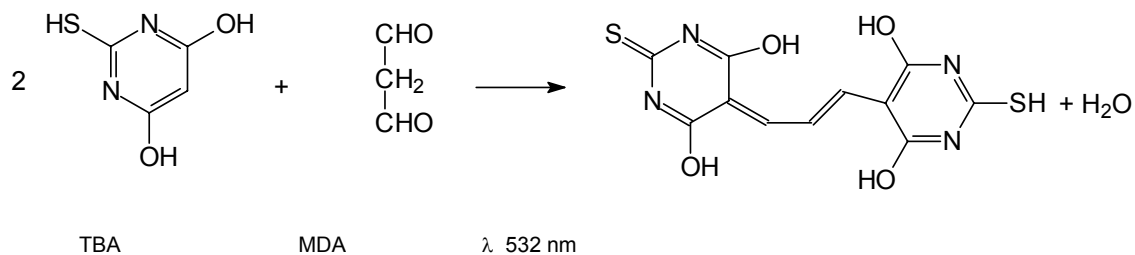


Figura 19. Reação utilizada para detecção de Malondialdeído (MDA) em plasma humano.

Ao plasma é adicionado ácido tiobarbitúrico (TBA), que reage com MDA e forma um cromógeno que absorve a 532 nm.

1.5.3.1.2 Hidroxinonenal (4-Hidroxi-2-nonenal, HNE)

HNE é o produto majoritário da oxidação de ácidos graxos polinsaturados. Várias técnicas têm sido desenvolvidas para sua determinação em amostras biológicas, em sua forma livre, pois a recuperação de HNE do plasma é muito baixa e, como acontece com todos os aldeídos há necessidade de sua derivatização para análise em HPLC (GIAMMARIOLI *et al.*, 1999; MCCALLL e FREI, 1999; THEROND *et al.*, 2000 ; HALLIWELL e GUTTERIDGE, 2002). A derivatização com DNFB, seguida de cromatografia em camada delgada e HPLC, com detecção por espectrofotometria no UV, consome um tempo considerável. Nesse sentido, foi proposto um método utilizando cicloexanodiona, que forma um derivado que pode ser detectado por fluorescência (YOSHINA *et al.*, 1986). A seletividade do método pode ser aumentada por utilização de tetraidrofurano ao invés de cinco outros solventes, porém a recuperação de HNE é muito baixa (cerca de 8%) (HOLLEY e WALKER, 1993). Mais recentemente a quantificação de HNE em plasma passou a ser realizada com pentafluorobenzil-hidroxilamina para formar o derivado pentafluorobenziloxima, que é analisado por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas com ionização química negativa (GC/NICI-MS), usando HNE deuterado como padrão interno (THÉROND *et al.*, 2000). Neste método, apesar de haver um aumento significativo na recuperação de HNE do plasma (60 a 80% *versus* 8%), sua concentração permanece, ainda, mais baixa do a de outros aldeídos marcadores de peroxidação lipídica, devido, provavelmente, à ligação aos grupos sulfidril ou amina de proteínas (THÉROND *et al.*, 2000).

1.5.3.1.3 Isoprostano (8-Epi Prostaglandina 2 α , 8-epi-PGF_{2 α})

O Isoprostano pertence a família dos eicosanóides de origem não enzimática e é produzido pela oxidação do ácido araquidônico. Inicialmente são formados nos fosfolipídios da membrana celular e depois liberados para os fluidos biológicos pela fosfolipase (MCCALL e FREI, 1999; THÉROND *et al.*, 2000). Ao contrário do que ocorre com os hidroperóxidos lipídicos (produtos primários da PL), que se decompõem rapidamente nos fluidos e tecidos humanos, F₂-Isoprostanos são produtos secundários da peroxidação lipídica quimicamente estáveis, podendo inclusive ser dosados na urina. Esta estabilidade é a razão pela qual a sua quantificação desperta interesse, com o aparecimento de muitos protocolos para sua análise. Além disso, são produtos específicos da PL, estão presentes em quantidades detectáveis em todos os fluidos biológicos e tecidos, sua formação aumenta drasticamente em modelos animais de dano oxidativo, sua formação é modulada pelo estado anti-oxidante e seus níveis não são afetados pelo conteúdo de lipídios da dieta (ROBERTS e MORROW, 2000). Como MDA, ele é, também, considerado um candidato potencial para ser escolhido como um biomarcador geral de dano oxidativo em plasma [KADIISKA *et al.*, 2005(a); KADIISKA *et al.*, 2005b)].

O método mais adequado para análise de isoprostanos é a cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas com ionização química negativa (GC/NICI-MS), contudo, devido ao alto custo financeiro e operacional, os métodos radiométricos e imunológicos são mais utilizados (GIAMMARIOLI, 1999; MCCALL e FREI, 1999; THÉROND *et al.*, 2000).

1.5.3.2 Marcadores de oxidação de proteínas

1.5.3.2.1 Grupos carbonila em proteínas

A modificação de proteínas pode ser induzida por ERO, por cátions metálicos (Fe²⁺, Cu⁺), por endobióticos (GSH), por HOCl e HOBr, no processo da fagocitose, por irradiação, por peróxidos lipídicos, por oxidoredutases, por fármacos, etc.) (**Tabela 2**). Todos os aminoácidos são susceptíveis à oxidação, principalmente os aromáticos, que são os alvos preferidos de ataque. Existem, portanto, muitos mecanismos para a oxidação de proteínas, e, ao mesmo tempo, muitas substâncias

passíveis de tal modificação (SHACTER, 2000; THÉROND *et al.*, 2000). A oxidação direta de lisina, arginina, prolina e treonina produzem derivados carbonílicos (**Figura 20**). Além disso, grupos carbonila podem ser introduzidos em proteínas via reação com aldeídos derivados da peroxidação lipídica (MDA, HNE) ou gerados a partir da reação de redução de açúcar (p.ex., glicose) ou produtos de sua oxidação com resíduos de lisina (reações de glicação e de glicoxidação formando carboxi metil-lisina) (FREI, 1995; BERLETT e STADMAN, 1997; MCCALL e FREI, 1999). Vale salientar que, segundo o Joint Commission on Biochemical Nomenclature, o termo glicação difere de glicosilação. Esta última constitui o processo pos-traducional catalisado por enzimas. A glicação é um processo não enzimático a que estão sujeitas todas as proteínas e consiste de duas (2) etapas:

- 1) Glicose e grupo amino de lisina reagem e formam frutose-lisina (FL);
- 2) FL sofre desidratação, rearranjo e ciclização seguida de reação, que forma os AGEs (Advanced Glycation End products) ou escurecimento ou reação de Maillard (SOBAL *et al.*, 2000 ; MCCALL e FREI, 1999; FREI, 1995).

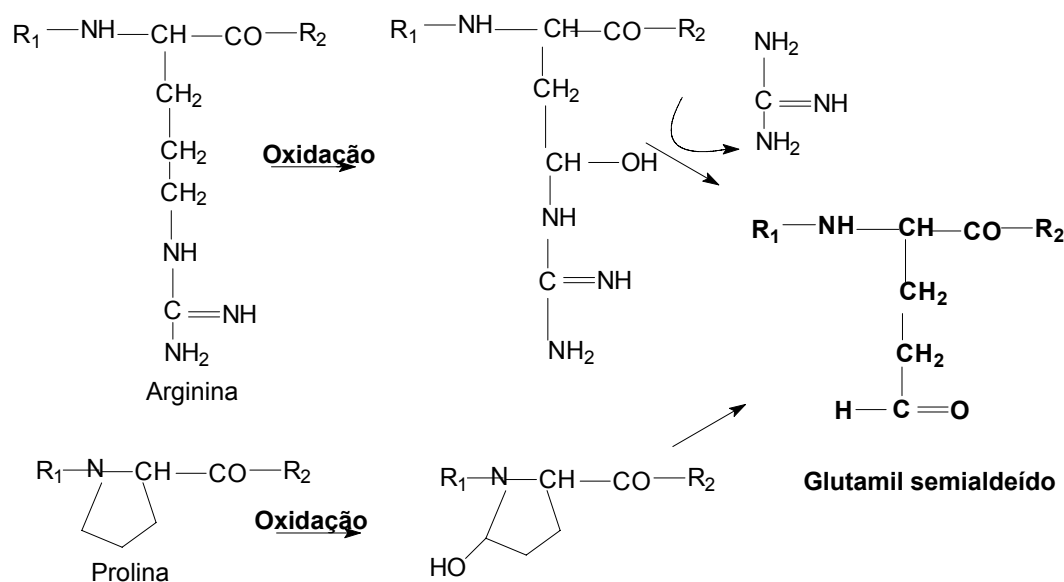


Figura 20. Exemplos de formação de grupos carbonila por oxidação de aminoácidos.

Fonte: Adaptado de HALLIWELL, e GUTTERIDGE, 2002.

O conteúdo carbonílico de proteínas é amplamente utilizado como marcador de dano oxidativo em proteínas, sob condições de estresse oxidativo. É necessário,

porém, identificar a natureza do grupo carbonila, i. e., qual dos resíduos de aminoácido sofreu o dano? A ligação de certos aldeídos a proteínas (ex. MDA e HNE) pode gerar carbonila por glicoxidação, de modo que a presença de grupo carbonila não é, necessariamente, indicativa de oxidação de aminoácidos (MCCALL e FREI, 1999; SHACTER, 2000).

Há diversas técnicas para medir a presença de grupo carbonila em proteínas, sendo imprescindível uma preparação adequada da amostra (LEVINE *et al.*, 1990). Por isso, tal análise em plasma humano requer uma exaustiva seqüência de procedimentos para separar as proteínas. O método mais conveniente é o espectrofotométrico, baseado na reação de DNPH com o grupo carbonila que forma a hidrazona da proteína, cuja leitura de absorvência é feita a 370 nm (SHACTER, 2000; MCCALL e FREI, 1999; LEVINE *et al.*, 1990; LEVINE, 2002) (**Figura 21**). A unidade mais utilizada para carbonila é nmol/g de proteína, por isso é necessário quantificar a proteína total da amostra utilizando o método de BRADFORD (1976) ou outros.

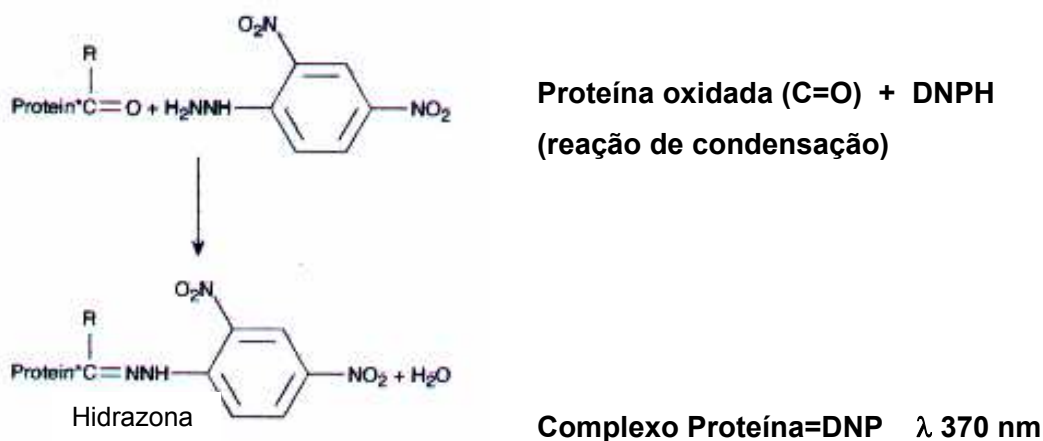


Figura 21. Esquema da reação de 2,4-dinitrofenilhidrazina – DNPH com a proteína oxidada formando o complexo proteína - dinitrofenilhidrazona detectado em 370 nm.

1.5.3.3 Marcadores de espécies reativas de nitrogênio (ERN)

O óxido nítrico (NO^{*}) é rapidamente metabolizado a produtos estáveis, ou seja, nitrito e nitrato, na maioria dos fluidos do corpo, inclusive no plasma. O método de determinação mais comumente utilizado baseia-se na reação de diazotização (método de Griess), específico para nitrito e não detecta nitrato. O tratamento da amostra com agentes redutores ou enzimas, gera o total de produtos em termos de nitrito e nitrato, com detecção espectrofotométrica (THÉROND *et al.*, 2000). Outros métodos têm sido desenvolvidos incluindo HPLC, eletroforese capilar e cromatografia de troca iônica com detecção no ultravioleta, desde que o soro ou plasma estejam frescos. Existem diversas limitações para a determinação de nitrato e nitrito em sangue, destacando-se: 1) sua meia vida no plasma é de cerca de 1 hora e 30 minutos sendo a seguir excretados pela urina; 2) seus valores plasmáticos são dependentes da integridade renal. Assim, o real valor da sua determinação precisa ainda ser estabelecido (THÉROND *et al.*, 2000). A combinação de NO^{*} com outras ERO, gera reagentes que promovem a nitração das biomoléculas, incluindo resíduos de tirosina e tocoferol localizados nas membranas. A 3-nitrotirosina (3-NO₂-Tir) e o 5- γ -nitrotocoferol constituem os biomarcadores da oxidação NO-dependente de tecidos biológicos. Para ambos, HPLC com detecção eletroquímica é a técnica de escolha, pela sensibilidade e seletividade, pois é necessário separá-los de outros produtos de oxidação: 3,4-DOPA, 3-clorotirosina, 3,3'ditirosina, *m*-tirosina e *o*-tirosina, no caso de 3-NO₂-Tir; e de outras formas de tocoferol (γ , α , β) no caso de 5- γ -nitrotocoferol (FREI, 1995; THÉROND *et al.*, 2000; HENSLEY *et al.*, 2000).

1.5.4 Sobre a complexidade na determinação de anti-oxidantes e marcadores de espécies reativas e dano oxidativo

A determinação de anti-oxidantes e marcadores de dano oxidativo com aplicação clínica para diagnóstico, com exceções, como é o caso da ceruloplasmina na doença de Wilson, permanece em nível de pesquisa, uma vez não foi possível ainda, sequer determinar se o fenômeno oxidativo observado é causa ou consequência da doença.

Como visto, muitos processos celulares dependem de o balanço redox. As substâncias envolvidas no binômio anti-oxidante – pró-oxidante, que configura o balanço redox biológico, podem ser quantificadas associando às técnicas bioquímicas tradicionais, técnicas cromatográficas, espectrofotométricas e eletroanalíticas, selecionadas observando critérios de sensibilidade, especificidade, acuracidade, facilidade de manipulação, rapidez, robustez, objetivo, tipo de amostra, preço, repetibilidade, eficiência, entre outros. A determinação dessas substâncias revela-se de grande importância, com grandes perspectivas de aplicação clínica para diagnóstico de doenças e do estado geral de saúde do indivíduo. Além disso, o entendimento dos mecanismos utilizados pelas células para a manutenção do balanço redox do meio é fundamental na identificação de biomarcadores representativos para a avaliação do nível de estresse de diferentes indivíduos. Há interesse dos especialistas em ciências da saúde, em ciências química e bioquímica, em nutrição, e, principalmente, do público em geral.

Há muita complexidade nas diversas áreas envolvidas, muita informação e discussão. O número de artigos publicados quadruplicou na última década (HUANG *et al.*, 2005). O presente trabalho procurou citar os métodos de determinação analítica, mais conhecidos e utilizados, aplicados em sangue/ou plasma/ou soro humano.

O conhecimento de todos esses aspectos, muito fluidos, algo ambíguos, no presente momento, é necessário para a crítica e aceitação dos métodos vindouros.

A natureza única do plasma humano, enquanto fonte não só de proteínas clássicas já utilizadas no diagnóstico de doenças (em concentrações de mg/mL), mas em nível de proteômica (pg/mL até ng/mL), torna esse biofluido um desafiante meio de investigação e aponta para o desenvolvimento de técnicas capazes de identificar biomarcadores mais específicos (JACOBS *et al.*, 2005), inclusive do balanço redox. Apesar de reconhecido que os testes de diagnóstico *in vitro*, contribuem em 94% com os registros de dados clínicos e influenciam em 60 a 70% das decisões clínicas (VITZTHUM *et al.*, 2005) o seu uso em nível de proteômica não está estabelecido e encontra-se em franco desenvolvimento. Há enormes desafios que impedem ou pelo menos dificultam a sua aplicação para descobrir biomarcadores de maior sensibilidade e especificidade, entre outras características importantes (LABAER, 2005) para o fenômeno que está sendo investigado, e

consequentemente a utilização destes dados para inferir estado redox de indivíduos e para auxiliar em terapia anti-oxidante. Não há consenso. No momento, como apresentado, a despeito do forte interesse, desenvolvimento e plausibilidade biológica, a hipótese de ligação direta entre estresse oxidativo e doenças é, ainda, de difícil comprovação, uma vez que há inúmeros fatores limitantes, tais como procedimentos de coleta e armazenamento, a técnica analítica em si, em muitos casos, de elevado custo e de difícil operacionalização, a falta de uniformidade nas unidades em que se exprimem os resultados, bem como os valores de referência, a quantidade de fatores interferentes e principalmente questões ligadas à variabilidade genética. Apesar da listagem dos valores considerados normais ou de referência (FREI, 1995; ARMSTRONG, 1998; SCHACTER, 2000; ABUJA e ALBERTINI, 2001; HALLIWELL e GUTTERIDGE, 2002), é útil salientar que não existem ainda valores de referência universalmente aceitos/adotados, uma vez que os próprios métodos de análise e quantificação, além de envolverem diferentes técnicas, estão em processo de desenvolvimento e aperfeiçoamento. A validação dos métodos encontra-se em curso, com utilização do modelo murino de envenenamento por CCl_4 . O desenvolvimento de outros modelos é ainda, necessário para comparação [KADIISKA *et al.*, 2000; KADIISKA *et al.*, 2005(a); KADIISKA *et al.*, 2005(b)].

Nessa perspectiva, pesquisas aliando esses marcadores e novos desenvolvimentos de ferramentas e métodos analíticos que possibilitem uma avaliação de forma menos invasiva, sensível, rápida e simples, com janelas de detecção cada vez menores, vem assumindo um papel relevante no avanço da investigação.

Nesta dimensão, estaremos, provavelmente, em condições de relacionar o balanço redox avaliado em indivíduos, com diferentes aspectos demográficos, clínicos e nutricionais, entender os mecanismos do estresse oxidativo, bem como de prevenir ou minimizar os efeitos das doenças oriundas dos mesmos, realizando diagnósticos antecipados.

1.6 Aspectos nutricionais relacionados com o estudo do estresse oxidativo

Ao avaliar os marcadores de dano oxidativo e o estado anti-oxidante de hipertensos utilizando quaisquer técnicas, além dos fenômenos fisiopatológicos pró-oxidantes discutidos anteriormente, deve-se considerar todos os fatores interferentes tais como: idade, hábitos de vida (consumo de álcool, prática de exercícios físicos, tabagismo, etc), uso de medicações e suplementos vitamínico-minerais (CHENG *et al.*, 2001; URSO e CLARKSON, 2003; DURAK *et al.*, 2004) entre outros, e particularmente estado nutricional e consumo de alimentos e nutrientes específicos (DUTHIE *et al.*, 1989; CHRISTEN *et al.*, 2000; CZERNICHOW e HERCBERG, 2001; KRIS-ETHERTON *et al.*, 2002; LOPES *et al.*, 2003; VIVEKANANTHAN *et al.*, 2003; WILLCOX *et al.*, 2003).

O sistema anti-oxidante seja o enzimático, seja o não enzimático, apresenta uma estreita relação com o estado nutricional (HALLIWELL e GUTTERIDGE, 2002), uma vez que proteínas, vitaminas e minerais obtidos da dieta participam direta ou indiretamente da sua formação e/ou atividade anti-oxidante no organismo humano (**Tabelas 4 e 5**). Nesse sentido, sempre que possível, é interessante verificar o consumo de nutrientes com atividade anti-oxidante em indivíduos sob essa linha de investigação.

Na área das doenças cardiovasculares estudos epidemiológicos e clínicos têm estabelecido o papel protetor de uma dieta rica em frutas e vegetais, fonte de carboidratos complexos, fibras, minerais e substâncias anti-oxidantes como p. ex. vitamina E, selênio e flavonóides, e pobre em alimentos processados fontes de sal, gorduras saturadas e *trans*-isoméricas.

É o caso do Seven Countries Study, realizado em 1958, por Keys e colaboradores que estudaram 12.763 indivíduos, durante 25 anos nos EUA, Japão, Finlândia, Holanda, Itália, Grécia e antiga Iugoslávia que deu origem ao conceito de dieta mediterrânea, seguido pelo Lyon Diet Study (KRIS-ETHERTON *et al.*, 2001). Os estudos de coorte realizados na Grécia (TRICOPOULOU *et al.*, 2003) e o americano (O Nurses' Health Study, Health Professionals' Follow-Up Study), realizado com 84.251 mulheres de 34 a 59 anos, acompanhadas por 14 anos e 42.148 homens de 45 a 75 anos, acompanhados por 8 anos (JOSHIPURA *et al.*, 2001). Em todos estes estudos, os resultados são de proteção cardiovascular, em caso de dieta rica em anti-oxidantes.

Tabela 4. Nutrientes com atividade anti-oxidante direta e fontes alimentares

Nutrientes	Atividade anti-oxidante	Fontes Alimentares
Vit C	Eliminação direta de ERO e ERN; recicla o radical α -tocoferila a α -tocoferol.	Acerola, laranja, limão, caju, goiaba, vegetais frescos, etc.
Vit E	Protege LDL (lipoproteína de baixa densidade) e as membranas celulares inibindo a peroxidação lipídica e interrompendo a reação radicalar em cadeia.	Óleos vegetais, castanhas, amendoim, etc.
Carotenóides (β -caroteno)	Em baixas concentrações de oxigênio eliminam o oxigênio singlete e seqüestram radicais peroxila	Frutas e hortaliças de cor amarela – alaranjada (cenoura, abóbora manga, mamão); mostarda, couve, agrião, batata doce, etc.
Flavonóides e polifenóis	Agente doador de H e elétrons aos radicais livres e quelante de metais de transição.	Frutas e legumes em geral; couve, cebola, grão de bico, tomate, azeitonas, chá verde, chá preto, soja, castanha, chocolate, ameixa, maçã, laranja, limão, suco de uva, vinho tinto, cerveja, etc.

Especificamente voltado para hipertensos, foi o estudo DASH (Dietary Approaches to Stop Hypertension), cujo objetivo foi determinar a dieta que diminuiria a PA, reduzindo risco potencial de eventos cardiovasculares fatais. Foi um estudo multicêntrico (Brigham and Women's Hospital, Boston, MA; Center for Health Research, Portland, OR; Duke University Medical Center, Durham, NC; John's Hopkins University, Baltimore, MD; Pennington Biomedical Research Center, Baton Rouge, LA; The National Heart, Lung and Blood Institute), randomizado e controlado, realizado com 459 adultos, hipertensos (133) e não hipertensos (326). Os resultados mostraram que a dieta DASH reduziu tanto a pressão arterial sistólica (PAS), quanto a diastólica (PAD), cujos valores em média foram de PAS em -5,5 mmHg e a PAD em -3,0 mmHg, sendo tal redução entre os hipertensos de -11,4 mmHg e -5,5 mmHg, respectivamente. A dieta DASH é rica em frutas, vegetais (10 porções/dia) e produtos lácteos, pobres em gorduras, inclui grãos integrais, aves, peixes e amêndoas, tem pouca quantidade de carne vermelha, doces e bebidas adoçadas, é rica em K^+ , Mg^{++} , Ca^{++} e fibras, moderadamente rica em proteínas e pobre em gorduras total e saturada e colesterol (SACKS *et al.*, 2001).

Tabela 5. Nutrientes com atividade anti-oxidante indireta e fontes alimentares

Nutrientes	Função anti-oxidante	Fontes Alimentares
Ferro	Grupo prostético de catalase; previne hipóxia, hemoglobina e mioglobina	Carnes vermelhas e vísceras; Feijões e vegetais (Fe não hemínico), etc.
Manganês	Cofator de MnSOD	Grãos integrais, leguminosas, café e chás instantâneos, etc.
Cobre	Cofator de CuZnSOD e de ceruloplasmina; além do transporte do Cu, atua como ferroxidase	Fígado, frutos do mar, castanhas, cacau, grãos integrais e gelatina, etc.
Zinco	Cofator de CuZnSOD e de metalotioneína	Carnes, aves peixes, camarão, ostra, fígado, grãos integrais, cereais, castanhas, legumes e tubérculos, etc.
Magnésio	Cofator na via pentose-fosfato	Hortaliças, legumes, frutos do mar, castanhas, cereais, leite, etc.
Proteínas	Provisão de aminoácidos para síntese de enzimas anti-oxidantes	Carnes, aves, peixes leite, queijos, ovos; leguminosas, etc.
Riboflavina ou Vit B2	Forma coenzima flavina adenina dinucleotídeo (FAD). O fator FAD é cofator da Glutathione Redutase	Leite e derivados e vísceras como fígado e rins, etc.
Tiamina ou Vit. B1	Requerida para a transcetolase na via da pentose fosfato	Carnes magras, vísceras (fígado, coração e rins), gema de ovo e grãos integrais, etc.
Selênio	Cofator de glutathione peroxidase e outras selenoproteínas	Castanha do Pará, alho, atum, cebola brócolis, cereais integrais, farelo de trigo, fígado, frango, frutos do mar, gema de ovo, leite, etc.
Nicotinamida Niacina ou ác Nicotínico ou Vit. B3 ou Vit. PP	Componente das coenzimas NAD ⁺ , NADP ⁺ , NADH, NAD(P)H, importantes no metabolismo energético.	Carnes magras, aves e peixes, vísceras, levedura de cerveja, amendoim, etc.
Ác. Fólico ou Folacina ou Vit Bc	Minimiza os níveis de homocisteína plasmática, cujos níveis elevados estão relacionados a lesão oxidativa do endotélio vascular.	Vísceras, feijão, vegetais de folhas verdes (espinafre, brócolis, etc)

A importância de frutas e vegetais na dieta cotidiana vem sendo defendida pela OMS, através da Estratégia Global para Promoção da Alimentação Saudável, Atividade Física e Saúde (2004), que incentiva os estados membros da OMS que a apliquem de acordo com sua realidade, no sentido de prevenir e controlar as DCNT: cárie dentária, obesidade, osteoporose, câncer, diabetes, doenças cardiovasculares

e hipertensão arterial. O próprio MS/Brasil publicou, em 2005, o Guia Alimentar para a População Brasileira, voltado para técnicos da área de alimentação, nutrição e saúde e para a população leiga em geral, incentivando a adoção de uma alimentação saudável, com alimentos regionais, onde orienta para o consumo de pelo menos 6 porções/dia de frutas, legumes e verduras, além de 1 porção/dia de feijões e do incentivo ao consumo de raízes e tubérculos, que precisa ser universalmente resgatado, em todas as regiões brasileiras (MS, 2005). Todos estes alimentos são importantes fontes de nutrientes e substâncias com atividade antioxidante. Ainda, nesse sentido, no final de 2004, foram publicados os resultados do Interheart Study, um estudo multicêntrico, envolvendo 262 centros de 52 países dos 5 continentes, com 29.972 indivíduos, onde pacientes com infarto agudo do miocárdio (IAM) nas primeiras 24 horas foram pareados (idade e gênero) para controles, cujos resultados foram que nove (9) fatores de risco explicaram mais de 90% do risco atribuível para IAM: dislipidemia, tabagismo, HAS, diabetes, obesidade andróide, fatores psicossociais, baixo consumo de frutas e vegetais, consumo elevado de álcool e inatividade física. Mais uma vez, verificou-se a associação positiva entre consumo de frutas e vegetais e proteção cardiovascular (YUSUF *et al.*, 2004).

Pelo exposto, o estudo da dieta de indivíduos sob investigação do fenômeno do estresse oxidativo e sua relação com a doença é de extrema pertinência. A correlação dieta/ hipertensão arterial foi tentada no presente trabalho, apesar da série de problemas encontrados, que impossibilitaram conclusões definitivas.

1.7 A interdisciplinaridade do estudo do estresse oxidativo

Outro aspecto que merece ênfase é que o estudo do estresse oxidativo em uma doença multifatorial, por isso denominada síndrome, como a hipertensão arterial sistêmica primária ou essencial tem despertado interesse crescente das mais diversas áreas do conhecimento, pois uma diversidade de fatores está envolvida no seu processo de causalidade, desenvolvimento e detecção. Nesse contexto de complexidade, o desenvolvimento dessa pesquisa necessitou um ambiente

interdisciplinar, daí, a presença na equipe de químicos, farmacêuticos, nutricionistas, médicos cardiologistas e biofísicos.

Este estudo foi realizado com a participação de pesquisadores e alunos de diferentes formações, envolveu várias instituições e abordou aspectos sociais, clínicos, nutricionais, bioquímicos e químicos relacionados à área de pesquisa do estresse oxidativo. Foi desenvolvido no Programa de Pós-Graduação em Química e Biotecnologia, laboratório de eletroquímica da UFAL e abre uma nova linha de pesquisa com a perspectiva de obtenção de novos conhecimentos no estudo dos marcadores de balanço redox.

Capítulo 2- OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

- Estudar o balanço redox, em sangue, de portadores de hipertensão arterial primária, em comparação com controles normotensos, pela análise quantitativa de biomarcadores de balanço redox em sangue, utilizando técnicas bioquímicas, cromatográficas e espectrofotométricas e verificar a sua correlação com dieta.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Comparar o balanço redox, em sangue, de hipertensos e normotensos, através da quantificação dos biomarcadores SOD, CAT, GPx, GSH, Vitamina C, transferrina, ceruloplasmina, MDA e grupos carbonila.
- Verificar a associação entre biomarcadores de balanço redox e hipertensão arterial sistêmica primária, em população da zona da mata alagoana.
- Investigar os hábitos alimentares dos grupos controle e de estudo.
- Verificar a existência de correlação entre dieta e biomarcadores de balanço redox em hipertensos.
- Conhecer os níveis de ingestão alimentar de nutrientes relacionados com o balanço redox.
- Analisar a adequação dietética dos nutrientes selecionados.

Capítulo 3- MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 DELINEAMENTO

Estudo do tipo caso-controle, cuja estratégia de ação foi:

- Caracterizar indivíduos portadores de hipertensão arterial primária;
- Caracterizar indivíduos normotensos;
- Avaliar o estado nutricional de hipertensos e normotensos;
- Identificar o padrão alimentar da população em estudo;
- Verificar o consumo de nutrientes em indivíduos hipertensos e normotensos;
- Relacionar os tipos de medicamentos anti-hipertensivos utilizados por hipertensos em tratamento medicamentoso, e dentre esses, listar aqueles que têm relação direta com o estresse oxidativo;
- Intervir, eventualmente, no padrão estabelecido, no tocante, principalmente a interferentes nas análises a serem efetuadas.

3.2 PROCESSO DE SELEÇÃO DOS INDIVÍDUOS

3.2.1 Descrição do grupo estudo

Constituído de indivíduos hipertensos. Foram avaliados 433 indivíduos portadores de Hipertensão Arterial Sistêmica – HAS, do município de Flexeiras – AL, cadastrados no HIPERDIA/MS (Programa de Controle da Hipertensão Arterial Sistêmica e Diabetes Mellitus do Ministério da Saúde), acompanhados pelas equipes do PSF (Programa de Saúde da Família) do município. Os indivíduos foram recadastrados com as fichas do HIPERDIA (**Anexo 1**) em reuniões agendadas com as equipes dos PSFs (**Apêndice 1**), sendo orientados a comparecer em jejum, com preparo adequado, para a coleta de sangue (**Apêndice 2**).

O cadastramento foi a primeira etapa do projeto de pesquisa para o SUS (PPSUS/MS/CNPq/FAPEAL) em curso, “Hábitos Alimentares e Estado Nutricional de Hipertensos e Diabéticos. Uma Contribuição às Ações de Controle de Fatores de Risco Cardiovascular do HIPERDIA – MS do Município de Flexeiras – AL” (**Apêndice 3**). Para tal, foi montada uma estrutura itinerante em microônibus cedido

pela prefeitura do município, para abranger a zona urbana e rural de Flexeiras em atividades de campo ocorridas no período de janeiro a março de 2005, com equipamentos e materiais (balança antropométrica eletrônica, aparelhos para aferir pressão arterial, etc), e pessoal (estudantes de nutrição, auxiliares de laboratório para coleta de sangue, além de agentes de saúde, médicos e enfermeiros dos PSFs). Após a coleta de sangue, os pacientes recebiam um lanche, e eram conduzidos para entrevista e avaliação antropométrica, mediante consentimento livre e esclarecido (**Apêndice 4**). Ao mesmo tempo, logo após a coleta, o sangue era transportado para Maceió para análise bioquímica (perfil lipídico, glicemia, uréia, creatinina e ácido úrico) no LACEN (Laboratório Central de Alagoas), através de parceria firmada entre o PPSUS e este laboratório, em transporte também cedido pela prefeitura de Flexeiras.

Dos 433 indivíduos estudados no período de janeiro a março/2005, 24 (5,5%) preencheram os critérios de seleção citados no item **3.2.3** e foram avaliados por cardiologista no sentido de confirmar o diagnóstico de HAS primária. Desses, 20 (4,6%) completaram o protocolo e foram inseridos nesta pesquisa (**Apêndice 5**), mediante termo de consentimento livre e esclarecido (**Apêndice 6**).

Após coleta e análise dos dados, foram incluídos, no presente estudo, os pacientes para os quais a avaliação clínico-laboratorial atendeu aos critérios de seleção listados a seguir (**3.2.3**).

3.2.2 Descrição do grupo controle

Constituído de indivíduos não hipertensos denominados normotensos. Foram estudados 63 indivíduos não portadores de Hipertensão Arterial Sistêmica, voluntários, do município de Flexeiras. Preencheram os mesmos critérios de seleção 21/63 (33,33%). Todos foram submetidos à avaliação bioquímica (perfil lipídico e glicemia) e avaliação antropométrica, sendo excluídos 42/63 (66,66%).

Este grupo foi obtido aleatoriamente, via convite às pessoas da comunidade para avaliação bioquímica e antropométrica e subsequente inclusão na pesquisa. O índice de recusa foi de cerca de 40%, devido, principalmente, ao preparo de quatro (4) semanas antes da coleta de sangue para análise dos biomarcadores de balanço redox.

3.2.3 Critérios de seleção

3.2.3.1 Critérios de inclusão

- a) Portadores de HAS essencial ou primária (segundo IV DBHA, 2002, e mantidas na V DBHA, 2006), no caso do grupo estudo e não portadores de hipertensão primária, no caso do grupo controle;
- b) Adultos: faixa etária dos 40 aos 60 anos de idade;
- c) Não obesos (Índice Massa Corporal - IMC ≤ 30 Kg/m² e $\geq 18,5$ Kg/m²);
- d) Não diabéticos (sem diagnóstico médico de Diabetes Mellitus e glicemia de jejum ≤ 100 mg/dL);
- e) Não hipercolesterolêmicos (colesterol sérico ≤ 200 mg/dL);
- f) Não fumantes;
- g) Mulheres fora do período da menopausa; não grávidas e não lactantes;
- h) Não portadores de Doença de Wilson, Doença de Keshan e Kwashiorkor;
- i) Não usuários de alopurinol e probucol, medicamentos utilizados para Hiperuricemia e hipercolesterolemia.

3.2.3.2 Fundamentação teórica para os critérios de seleção

Foram excluídas condições associadas ao estresse oxidativo e que estivessem fora do foco deste estudo, descritas a seguir.

3.2.3.2.1 HAS secundária

HAS secundária envolve outros mecanismos fisiopatológicos que não eram objeto de estudo nessa pesquisa.

3.2.3.2.2 Idade

Hipertensos com menos de 40 anos, frequentemente, são portadores de HAS secundária e indivíduos idosos (> 60 anos) podem apresentar o sistema de defesa antioxidante comprometido.

3.2.3.2.3 Obesidade e Desnutrição

São dois extremos de má nutrição, que apresentam relação indireta com o estresse oxidativo (VIOLI *et al.*, 2004; VENDEMIALE *et al.*, 1999; ABUJA e ALBERTINI, 2001): A possibilidade de indivíduos obesos apresentarem distúrbios metabólicos tais como dislipidemias e hiperglicemia é maior do que entre os indivíduos eutróficos, e, entre indivíduos desnutridos é maior a frequência de anemia e de deficiência de proteínas, o que compromete o sistema de defesa anti-oxidante (GUTTERIDGE, 1993).

3.2.3.2.4 Diabetes mellitus

Doença crônica caracterizada por deficiência absoluta ou relativa de insulina, cuja anormalidade metabólica típica é a hiperglicemia. A hiperglicemia promove o estresse oxidativo e induz o dano vascular através de várias vias, incluindo a formação de AGEs, com liberação direta de ERO (ABUJA e ALBERTINI, 2001; VIOLI *et al.*, 2004).

3.2.3.2.5 Hipercolesterolemia

O excesso de colesterol circulante no sangue está associado com o aumento do estresse oxidativo por promover a formação de proteínas de farnesilação na cascata de biossíntese do colesterol, por favorecer o desacoplamento de eNOS e por aumentar a atividade de NAD(P)Hox (WASSMANN *et al.*, 2004; VIOLI *et al.*, 2004).

3.2.3.2.6 Tabagismo

Toxinas produzidas pela inalação da fumaça do tabaco, destacando-se o monóxido de carbono, estariam envolvidas na produção de espécies reativas radicalares. Muitas substâncias presentes no cigarro na forma gasosa, como NH₃, CO, CO₂, aldeídos voláteis (acetaldeído, formaldeído, acroleína, etc), além de alcatrão, de nicotina, de metais, entre outros, promovem o estresse oxidativo, por diversas vias: (1) por causar dano direto, estimulando a peroxidação lipídica e oxidando bases do DNA; (2) por reagir com GSH e modificar proteínas com grupos SH e NH₂ (no caso dos aldeídos voláteis); (3) por estimular o macrófago a produzir

ERO e ERN ; (4) além de diminuir a atividade de ceruloplasmina (HALLIWELL e GUTTERIDGE, 2002).

3.2.3.2.7 Menopausa

Fase do ciclo da vida da mulher aonde ocorre diminuição do hormônio sexual feminino. O estrógeno inibe a peroxidação lipídica *in vitro*, provavelmente por causa do grupo OH que possui em seu anel fenólico, atuando como anti-oxidante bloqueador da reação em cadeia, em uma via semelhante à da vitamina E (HALLIWELL e GUTTERIDGE, 2002; MIQUEL *et al.*, 2005).

3.2.3.2.8 Gravidez e lactação

Situações especiais que não eram objeto desse estudo.

3.2.3.2.9 Doença de Wilson

Doença causada por deficiência de ceruloplasmina no sangue e que, por conseqüência, provoca toxicidade por excesso de cobre livre que passa a se depositar no fígado, rim, córnea e cérebro causando tremores e dano, o que dificulta a coordenação motora e promove progressivo retardo mental. O cobre, metal de transição, em excesso, encontra-se na forma livre, devido à deficiência de ceruloplasmina e favorece o estresse oxidativo, pela sua facilidade de transferência de elétrons ao oxigênio (HALLIWELL e GUTTERIDGE, 2002).

3.2.3.2.10 Doença de Keshan

Doença que evolui com inapetência e disritmia cardíaca, devido à deficiência de selênio, condição na qual não ocorre a produção de selenoproteínas (GSH, GPx, GR, etc), sistemas de defesa antioxidante importantes e essenciais, instalando-se o estresse oxidativo (HALLIWELL e GUTTERIDGE, 2002; HOLBEN, 1999).

3.2.3.2.11 Uso de alopurinol

Medicamento (**Figura 22**) utilizado no tratamento da hiperuricemia, captura e inativa ERO. O alopurinol e seu metabólito oxipurinol têm potencial farmacológico para proteger os tecidos do dano oxidativo em doenças mediadas pelo excesso de

atividade da xantina oxidase. O alopurinol serve como substrato da xantina oxidase e compete com os substratos fisiológicos xantina e hipoxantina, prevenindo, portanto, a produção em excesso de ácido úrico (**Figura 15**). Seu metabólito oxipurinol (**Figura 22**) é um inibidor da xantina oxidase, formando um complexo estável que não gera mais superóxido (BESWICK *et al.*, 2001, DOEHNER *et al.*, 2002).

3.2.3.2.12 Uso de probucol

Esse medicamento (**Figura 22**), atua como anti-oxidante, inibindo a modificação oxidativa da LDL. O probucol é utilizado como terapia medicamentosa auxiliar nas hipercolesterolemias, uma vez que reduz o LDL em cerca de 10%, porém seu uso é restrito, uma vez que também reduz o HDL em cerca de 15 a 20% (III DBD, 2001)

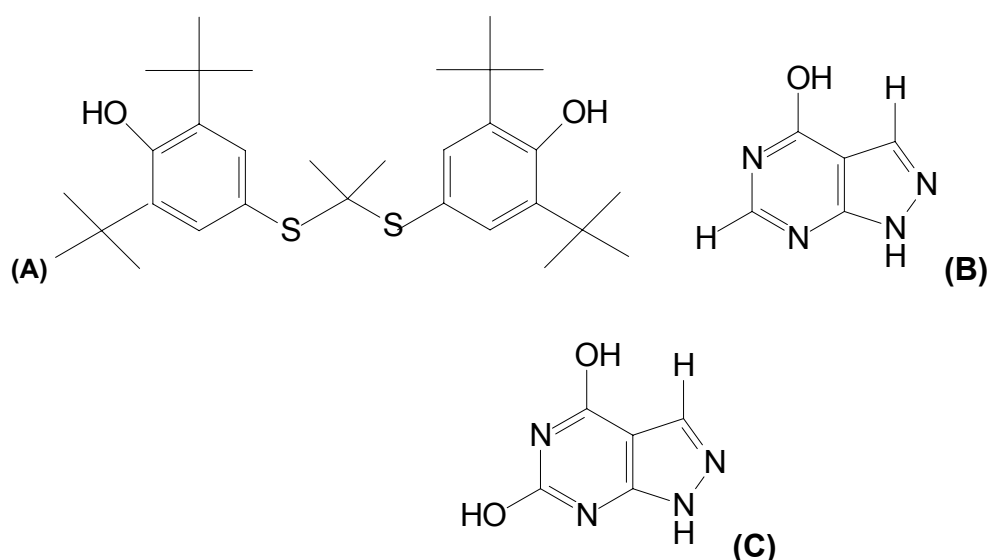


Figura 22. Estruturas do probucol (A) alopurinol (B) e oxipurinol (C).

3.2.4 Amostra

Do total de 496 indivíduos estudados, foram selecionados e incluídos 41 (8,26%) indivíduos assim distribuídos:

- 20 indivíduos hipertensos do município de Flexeiras (HAS primária), que constituem o grupo estudo (GE);

- 21 indivíduos não hipertensos do município de Flexeiras, que constituem o grupo controle (GC).

Uma vez preenchidos os critérios de seleção, os indivíduos foram convidados para uma reunião no Hospital Universitário – UFAL, na qual foi apresentado o protocolo da pesquisa, no sentido de reforçar a orientação individual prévia e a importância da colaboração de todos no preparo e coleta de dados.

3.3 ASPECTOS ÉTICOS

O projeto desta pesquisa foi submetido e aprovado pelo comitê de ética e pesquisa da UFAL (CEPE – UFAL) (**Apêndice 5**) e todos os indivíduos foram incluídos nesse estudo, mediante termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) (**Apêndice 6**). Todos os indivíduos incluídos tomaram ciência das etapas da pesquisa individualmente e em reunião no auditório do HU-UFAL, como supracitado, utilizando recurso de multimídia ilustrativo (**Apêndice 7**).

Ao término do estudo, os indivíduos estudados receberam os resultados dos exames de sangue e antropométrico (**Apêndice 8**) e foram convidados a assistir à apresentação dos resultados da pesquisa, também no auditório do HU-UFAL, com a utilização de recurso de multimídia ilustrativo (**Apêndice 9**). Os dados obtidos dos inquéritos dietéticos serão divulgados para os indivíduos em oficinas de educação nutricional, e em consultas de nutrição que já estão em processo de agendamento.

3.4 PROTOCOLO DE INVESTIGAÇÃO

O protocolo de investigação consistiu em (1) avaliação clínica, bioquímica e antropométrica para a seleção (2) avaliação antropométrica e dietética para caracterização da amostra selecionada e (3) avaliação laboratorial do balanço redox, aqui estabelecido, através da quantificação de alguns biomarcadores em sangue humano, sendo selecionados para este estudo as enzimas antioxidantes SOD, CAT e GPx; ceruloplasmina e transferrina; GSH, ácido úrico e Vitamina C, e a pesquisa

da presença de grupos carbonila em proteínas e malondialdeído, como descrito a seguir (3.4.3.4).

3.4.1 Avaliação clínica, bioquímica e antropométrica para a seleção

Foram obtidos dados de medida da pressão arterial e dados clínicos de seleção (p.ex. glicemia vs não diabetes, perfil lipídico vs não hipercolesterolemia, quadro clínico de menopausa, etc); medicamento anti-hipertensivo em uso e posologia entre outros. Estes dados foram obtidos através de exame físico e anamnese e exames bioquímicos realizados por profissionais de saúde (Médicos, Enfermeiros, Nutricionistas e Auxiliares de Laboratório) e estudantes do curso de Nutrição – UFAL.

3.4.2 Avaliação nutricional dietética e antropométrica para caracterização da amostra selecionada

3.4.2.1 Avaliação dietética

Foram aplicados, para cada indivíduo, 2 a 3 inquéritos dietéticos do tipo Recordatório de 24 horas (R24H) (**Apêndice 10**), em entrevistas realizadas através de visitas domiciliares (pelo menos um R24H) e via telefone, em dia útil, sorteado sem conhecimento prévio do entrevistador, nem do entrevistado. Foi utilizado para o registro alimentar, álbuns de fotografias de alimentos (ZABOTO, 1996), utensílios e medidas caseiras.

As medidas caseiras foram transformadas em porções, quantidade em grama (g) e volume em mililitro (mL), para subsequente análise de calorias e dos seguintes nutrientes: carboidratos (CHOH)_n, proteínas (Prot.) e lipídios (Lip.); vitaminas C e E; minerais ferro (Fe), zinco (Zn), cobre (Cu) e selênio (Se); eletrólitos sódio (Na) e potássio (K), além de fibras. O critério adotado para seleção dos nutrientes foi a sua relação com a hipertensão [carboidratos (CHOH)_n, Prot, Lip, Na, K e fibras] e com o estresse oxidativo, como antioxidante (vits. C e E) ou como parte das enzimas AO (Fe, Zn, Cu, Se).

Para o cálculo dos nutrientes ingeridos utilizaram-se as tabelas de composição química de alimentos abaixo relacionadas, sendo os nutrientes do grupo I e V com o auxílio do software DietPro versão 4.0 Agromídia UFV (MG) e os dos grupos II, III e IV, através de cálculo manual (**Tabela 6**).

Tabela 6. Grupos de nutrientes analisados e fontes de cálculo de composição nutricional dos alimentos

Grupo	Nutrientes analisados	Tabelas utilizadas (Referências)
I	Energia, carboidratos, proteínas, lipídios, ferro e vitamina C	PINHEIRO <i>et al.</i> Tabela para Avaliação de Consumo Alimentar em Medidas Caseiras , 1996.
II	Cobre, zinco, sódio, potássio	Tabela Brasileira de Composição de Alimentos, TACO . NEPA-UNICAMP, 2006.
III	Selênio	FERREIRA <i>et al.</i> Concentrações de selênio em alimentos consumidos no Brasil. Rev. Panam. Salud Publica/ Pan. Am. J. Public. Health , 2002.
IV	Vitamina E	PHILUPI, S. T. Tabela de Composição de Alimentos: Suporte para Decisão Nutricional , 2002.
V	Fibras	MENDEZ <i>et al.</i> Tabela de Composição de Alimentos , 1995.

A ingestão dietética foi avaliada considerando a média dos dias de R24H e a análise da adequação da ingestão de nutrientes foi feita com base nas DRIs (Dietary Reference Intake), propostas pelo IM/FNB (Institute of Medicine/ Food and Nutrition Board) e para sódio e potássio também com base nas V DBHA (2006), cujos valores estão descritos na **Tabela 7**.

Quanto à avaliação da ingestão de energia foi utilizada a EER (Estimated Energy Requirement), através das equações ilustradas na **Tabela 8**, sendo a distribuição calórica dos macronutrientes avaliada através da AMDR (Acceptable Macronutrient Distribution Range) (FNB, 2002), também ilustradas na **Tabela 8**.

Além da avaliação da ingestão de energia e nutrientes com base nas DRIs, foi avaliada a ingestão média entre grupos (GE vs GC).

Em adição à análise quantitativa dos nutrientes citados, foi avaliado o número médio de porções de frutas, legumes e verduras consumidas e sua adequação frente ao recomendado, considerando o Guia Alimentar para a População Brasileira (MS, 2005), que estabelece na sua diretriz 3, o consumo diário de 3 porções de frutas e 3 porções de legumes e verduras, como parte de uma alimentação saudável.

Tabela 7. Recomendações nutricionais e terapêuticas dos micronutrientes analisados

Nutrientes	DRI utilizada	Recomendação diária e referência
Vitamina C	EAR	Homens 75 mg Mulheres 60 mg (IM/FNB, 2000)
Vitamina E	EAR	Homens e mulheres 12 mg (IM/ FNB, 2000)
Cobre	EAR	Homens e mulheres 700 µg (IM/ FNB, 2000)
Ferro	EAR	Homens 6,0 mg Mulheres 31 – 50 anos 8,1 mg 51 – 70 anos 5,0 mg (IM/ FNB, 2000)
Selênio	EAR	Homens e mulheres 45 µg (IM/FNB, 2000)
Zinco	EAR	Homens 9,4 mg Mulheres 6,8 mg (IM/FNB, 2000)
Sódio	AI	Homens 31 – 50 anos 1,5 g 51 – 70 anos 1,3 g Mulheres 31 – 50 anos 1,3 g 51 – 70 anos 1,2 g (IM/ FNB, 2004) Homens e mulheres 2,4 g (V DBHA, 2006)
Potássio	AI	Homens e mulheres 4,7 g (IM/ FNB, 2004; V DBHA, 2006)
Fibra	AI	Homens 19 – 50 anos 38 g ≥ 51 anos 30 g Mulheres 31 – 50 anos 25 g ≥ 51 anos 21 g (IM/ FNB, 2002)

EAR: Estimated Average Requirement (necessidade media estimada)

AI: Adequade Intake (ingestão adequada)

Os dados dietéticos foram coletados e analisados por nutricionista e estudantes da Faculdade de Nutrição – UFAL, previamente treinados (**Apêndice 12**).

Tabela 8. Necessidade estimada de energia para adultos e intervalo de distribuição aceitável dos macronutrientes

Sexo	EER: necessidade estimada de energia	AMDR
M	$662 - 9,53 \times I + NAF \times 15,91 \times \text{Peso (Kg)} + 539,6 \times \text{Altura (m)}$	45 - 65% (CHOH)n
F	$354 - 3,91 \times I + NAF \times 9,36 \times \text{Peso (Kg)} + 727 \times \text{Altura (m)}$	10 - 35% Prot. 20 – 35% Lip.

EER = Estimated Energy Requirement, AMDR = Acceptable Macronutrient Distribution Range, NAF = Nível de Atividade Física (1,0 = sedentário)

3.4.2.2 Avaliação antropométrica

Os pacientes foram submetidos ao exame de bioimpedância elétrica (BIA) (**Figura 23**), com aferição da circunferência da cintura (CC), no sentido de complementar a avaliação do estado nutricional obtida através do IMC (Índice de massa corporal) na triagem: A CC para verificar adiposidade andróide (AA) ou visceral e a BIA para avaliar a reserva de massa muscular, tecido adiposo e estado de hidratação do indivíduo.

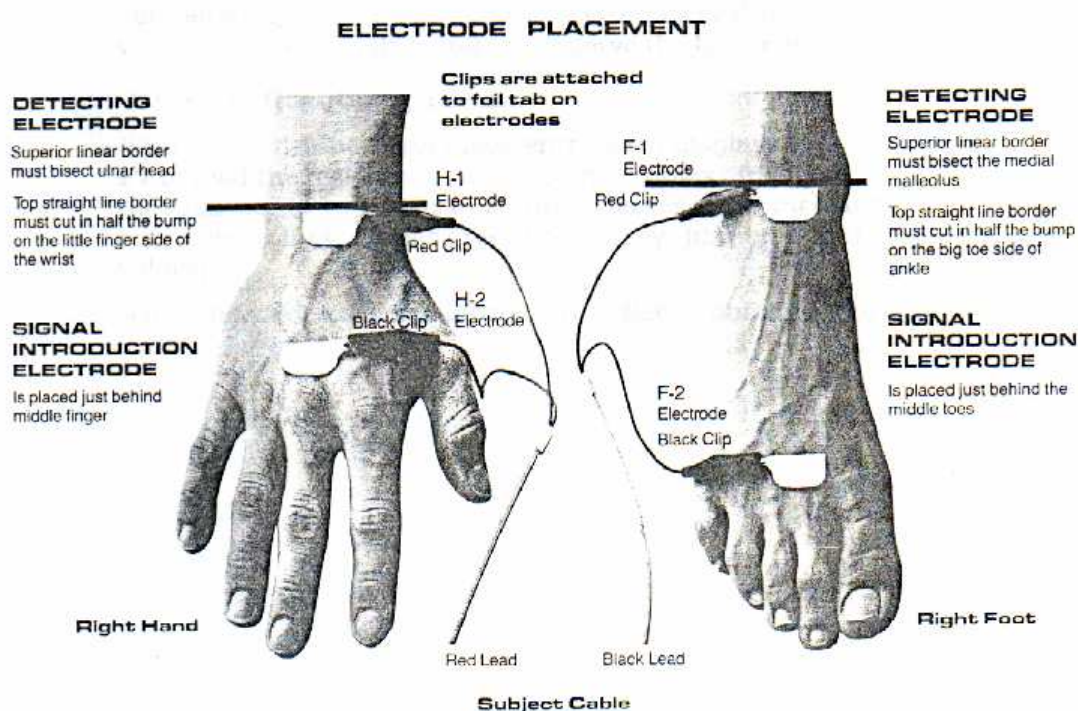


Figura 23. Visualização do posicionamento dos eletrodos para o exame de bioimpedância elétrica em sistema tetrapolar.

Fonte: Extraído do manual Comp Corp RJL System Inc (EUA) modelo BIA 101A

No agendamento, os pacientes foram orientados quanto ao preparo preliminar (**Apêndice 11**) para o exame de BIA.

Os exames foram realizados com os pacientes deitados em maca, sendo afixados eletrodos adesivos nas extremidades dominantes (dorso do pé e da mão), conectados ao sistema de bioimpedância Comp Corp RJL System Inc (EUA) modelo BIA 101A (**Figura 23**).

A circunferência da cintura e as medidas de peso e altura foram aferidas, com a utilização de fita métrica de fibra de vidro e balança antropométrica digital Filizola.

Os dados de CC foram interpretados segundo o National Cholesterol Education Program/ Adult Treatment Panel (NCEP ATP III), 2001: AA ♀ = CC > 88 cm e AA ♂ = CC > 102cm, e os dados de IMC segundo OMS (1995): Obesidade IMC ≥ 30 Kg/m² e Desnutrição IMC $\leq 18,5$ Kg/m² (VASCONCELOS, 2003). Os dados antropométricos foram coletados por nutricionista e estudantes da Faculdade de Nutrição – UFAL, previamente treinados.

3.4.3 Avaliação laboratorial do balanço redox

3.4.3.1 Preparo dos pacientes para dosagem dos biomarcadores de balanço redox.

Os pacientes foram orientados a suspender, se em uso, medicamentos interferentes como suplementos vitamínicos e minerais, paracetamol, dexametazona e bebidas alcoólicas (**Apêndice 11**), 4 semanas antes da coleta de sangue, e, a comparecer em jejum de 12 horas no dia da coleta.

Ao longo do mês de preparo, os pacientes eram contactados através de visitas domiciliares, agendamento de consultas ou via telefone, com o auxílio dos agentes comunitários de saúde, no caso dos indivíduos de Flexeiras, no sentido de assegurar a manutenção dos procedimentos de preparo.

3.4.3.1.1 Fundamentação para o preparo dos indivíduos para dosagem dos biomarcadores de balanço redox

3.4.3.1.1.1 Suspensão de suplementos vitamínicos e minerais

A utilização de suplementos vitamínicos e minerais representa um aporte sobressalente de nutrientes antioxidantes, geralmente de difícil obtenção através da dieta cotidiana, o que constitui uma situação artificial capaz de mascarar o ambiente antioxidante real podendo reforçar o estado antioxidante (suplementação de selênio, por exemplo) ou estabelecer uma condição pró-oxidante (suplementação de ferro, por exemplo).

3.4.3.1.1.2 Suspensão de paracetamol

O paracetamol (**Figura 24**), medicamento de efeito analgésico e antitérmico, ao ser metabolizado é transformado no fígado em ácido mercaptúrico, que diminui a concentração de GSH (ABDALLA, 1993); ele pode ser catabolizado por citocromo P450, particularmente o (CYP1), abundante na célula hepática, cujos substratos são xenobióticos (álcool, inseticidas, paracetamol, etc), e o produto, a isoforma quinoneimina, pode ser atacada por proteínas com grupos SH (nucleófilos). O paracetamol ou acetaminofeno pode ser catabolizado por glutathione S transferase (GST), através da conjugação com GSH. A GSH conjugada é excretada e os adutos podem ser degradados e acetilados a sua forma conjugada de N-acetilcisteína (Ác. Mercaptúricos) que podem ser excretados na urina (HALLIWELL e GUTTERIDGE, 2002). O paracetamol é, portanto, um fármaco com intensa atividade pró-oxidante.

3.4.3.1.1.3 Suspensão de dexametazona

A dexametazona (**Figura 24**) é um antiinflamatório corticosteróide que inibe a fosfolipase A2, diminuindo a liberação de ácido araquidônico, a formação de eicosanóides e a produção de interleucina 1 (IL-1), fator de ativação do plasminogênio (PAF), fator de necrose tumoral ($TNF\alpha$) e do inibidor da óxido nítrico sintase (eNOS), por macrófagos (HALLIWELL e GUTTERIDGE, 2002), atuando indiretamente como um antioxidante.

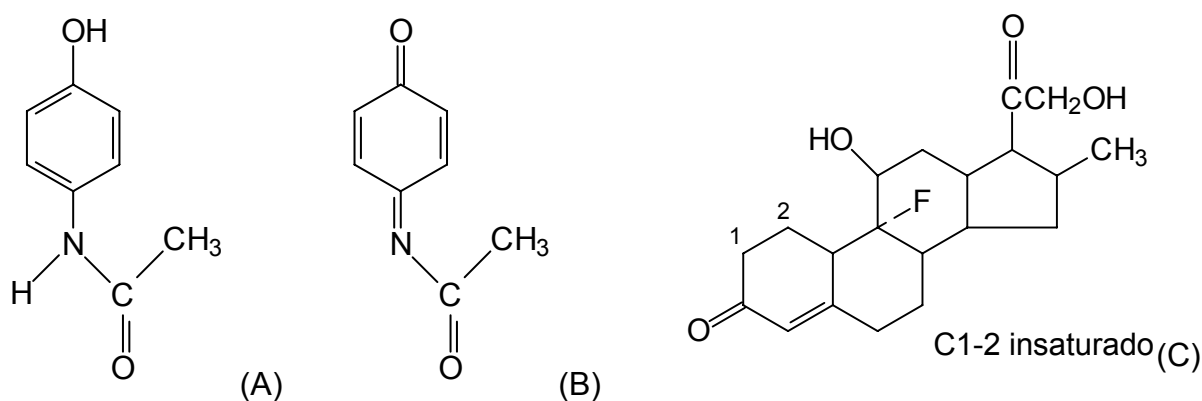


Figura 24. Estruturas do paracetamol (A), seu produto de oxidação (B) e da dexametazona (C).

3.4.3.1.1.4 Suspensão de bebidas alcoólicas

O álcool induz o estresse oxidativo durante o seu metabolismo de diversas formas: induzindo a enzima citocromo P450 a produzir mais $O_2^{\bullet-}$, aumentando a razão $NADH/NAD^+$ pela maior atividade da enzima álcool desidrogenase, o que favorece a redução de Fe^{3+} a Fe^{2+} , envolvido na geração de $^{\bullet}OH$ a partir de H_2O_2 e diminuindo a biodisponibilidade de nutrientes, entre outras (McDONOUGH, 2003; VENDEMIALE *et al.*, 1999, HALLIWELL e GUTTERIDGE, 2002; MANTLE e PREEDY, 1999; JORDÃO JUNIOR, 1998; PAPAS, 1996).

3.4.3.2 Coleta e tratamento das amostras de sangue

Os pacientes de Flexeiras foram conduzidos a Maceió em grupos, em transporte coletivo cedido pela Prefeitura Municipal de Flexeiras (Flexeiras - Maceió) e pela UFAL (Maceió – Flexeiras).

A coleta foi realizada em 2 semanas no laboratório de análises clínicas do HU/UFAL por auxiliares de laboratório, utilizando cadeiras de coleta, garrotes e agulhas com tubo de ensaio a vácuo (*Vacutainer*®), conforme procedimento padrão para coleta de sangue. Na 1ª semana, de 10/05 a 13/05/2005 e na 2ª semana de 18 a 23/08/2005.

Após a coleta, os pacientes foram conduzidos ao refeitório do HU/UFAL para o jejum e, em seguida, conduzidos ao seu local de origem.

Foram colhidos 20 mL de sangue em três tubos, sendo: 10 mL em heparina para as análises das enzimas antioxidantes e carbonila; 5 mL em EDTA para análise do hemograma e 5 mL, sem anticoagulante, para análise de transferrina, ácido úrico, ceruloplasmina e MDA, segundo fluxo de análise (**Apêndice 13**).

O sangue heparinizado e o sangue sem anticoagulante foram centrifugados a 3000 rpm, durante 5 minutos a 1569 xg (força centrífuga, assim representada em vezes por grama) e, as alíquotas de soro, plasma e hemácias colhidas em triplicata, acondicionadas em eppendorfs, etiquetadas e organizadas em estantes para armazenamento.

3.4.3.3 Armazenamento e transporte das amostras de sangue

Logo após alíquotagem das amostras, as mesmas foram armazenadas na soroteca do laboratório do HU/UFAL, a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$, para as análises bioquímicas e no Laboratório de Imunogenética do HEMOAL (Hemocentro de Alagoas), até o seu transporte para o Laboratório de Estresse Oxidativo, Depto. de Biofísica da UFRGS para as análises dos antioxidantes e marcadores de ambiente redox.

As alíquotas de hemácias, soro e plasma foram transportadas para a UFRGS acondicionadas em gelo seco e lá mantidas a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$, até a análise.

3.4.3.4 Análises das amostras

3.4.3.4.1 Análises bioquímicas e hemograma

As análises bioquímicas e os hemogramas foram realizados no laboratório do HU/UFAL. A análise de transferrina foi realizada através do método colorimétrico manual e de ceruloplasmina através do método enzimático manual como descrito no item **3.5**. O ácido úrico e as análises complementares da Capacidade Total de Ligação Ferro (CTLF), foram quantificados em soro fresco, pelo método enzimático automatizado de química clínica, Dimension[®] de Behring.

A leitura do hemograma foi feita em sangue fresco, coletado em EDTA, imediatamente após a coleta, pela hematologista do laboratório, através de metodologia automatizada no autoanalisador hematológico modelo STKS Colter (EUA), para obtenção dos valores individuais de concentração da hemoglobina (g/dL), para subsequente utilização nos cálculos das enzimas antioxidantes, cujas unidades são expressas em unidades por grama de hemoglobina.

3.4.3.4.2 Análises cromatográficas e espectrofotométricas

Para estas análises, realizadas na Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), nos Departamentos de Química e de Biofísica, foram utilizadas cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC – High Performance Liquid Chromatography) e espectrofotometria no ultravioleta-visível (UV-VIS), técnica de detecção de todas as análises. Um protocolo de análise foi elaborado, baseado em

estudo da literatura e em ensaios-piloto, resultando em um manual com as técnicas de análises aplicadas.

Enzimas antioxidantes (SOD, CAT, GPx), antioxidantes de baixa massa molecular (GSH e Vit C) e marcadores de estresse oxidativo (carbonila e MDA) foram, então, quantificados como descrito a seguir (3.5, 3.6).

3.5 PROTOCOLOS EMPREGADOS PARA AS ANÁLISES BIOQUÍMICAS

3.5.1 Protocolo para análise de Transferrina (TRF)

3.5.1.1 Material de análise

Soro humano coletado em sistema *Vacutainer*[®]. Após coleta, o sangue foi mantido em repouso para coagular, para, em seguida, ser centrifugado e o soro separado e armazenado a -20 °C, até a análise, a ser realizada em 20 dias, no máximo.

3.5.1.2 Reagentes e equipamentos

Kit Spinreact: Diluente (R1), anticorpo (R2) e o calibrador PROT CAL.

NaCl 9 g/dL

Espectrofotômetro Bio-plus Bio 2000 com cubeta de quartzo de 1 cm

3.5.1.3 Fundamento do método e tratamento dos dados brutos

A quantificação de TRF é feita por turbidimetria, pois os anticorpos anti-TRF formam compostos insolúveis com a TRF da amostra do paciente, ocasionando uma mudança de absorvência proporcional à concentração de TRF, na amostra que pode ser quantificada por comparação com o calibrador de TRF de concentração conhecida.

Os dados brutos de absorvência obtidos em 1 minuto e em 2 minutos são subtraídos ($A_{1\text{min}} - A_{2\text{min}}$) e a concentração de TRF da amostra é calculada pela

interpolação dessa diferença na curva de calibração. Os resultados obtidos são expressos em mg/dL (valores de referência, **Tabela 9**).

A TRF foi também quantificada pelo método indireto, através do cálculo da CTLF e os valores obtidos foram muito próximos. Os resultados aqui apresentados são do método direto de análise.

3.5.2 Protocolo para análise de Ceruloplasmina (CER)

3.5.2.1 Material de análise

Soro humano coletado em sistema *Vacutainer*[®]. Após coleta, o sangue foi mantido em repouso para coagular e, em seguida, foi centrifugado e o soro fresco separado e analisado.

3.5.2.2 Reagentes e equipamentos

Kit Spinreact: solução tampão (R1), anticorpo anticeruloplasmina (R2) e o calibrador NaCl 9 g/dL

Espectrofotômetro Quick-Lab Drak (λ 340 nm, 37°, cubeta de quartzo de 1cm).

3.5.2.3 Fundamento do método e tratamento dos dados brutos

A quantificação de CER é feita pelo mesmo princípio da TRF, por imunoturbidimetria, uma vez que é baseada na reação antígeno-anticorpo, entre a ceruloplasmina como antígeno e o anticorpo anti-CER do kit.

Os dados brutos de absorvência obtidos de cada amostra são calculados pela interpolação desta diferença na curva de calibração. Os resultados obtidos são expressos em mg/dL (valores de referência, **Tabela 9**).

3.6 PROTOCOLOS EMPREGADOS PARA A REALIZAÇÃO DAS TÉCNICAS CROMATOGRÁFICAS E ESPECTROFOTOMÉTRICAS

3.6.1 Protocolo para análise simultânea de ascorbato e malondialdeído por HPLC (CLAE) com detecção em ultravioleta, em soro humano, segundo KATEPE, 2004

3.6.1.1 Material de análise

Soro humano coletado em sistema *Vacutainer*[®]. Após coleta, o sangue foi centrifugado, o soro separado e armazenado a - 80° C, até a análise realizada cerca de 1 mês depois.

3.6.1.2 Reagentes e equipamentos

Ácido Perclórico 70% (PM: 100,47 g/mol) 0,1 M (Carlos Erba);

Água destilada;

Fosfato de Potássio monobásico 30 mM, pH 3,6;

Metanol HPLC Grau A 452-4 UM 1230 Fischer Scientific F, classe 1B;

Centrífuga para tubo falcon;

Bomba à vácuo PRIMAR;

HPLC SPD – 10 A Shimadzu com detector no UV-visível em coluna C18, SUPELCO, SUPELCOSIL, LC-18-DB, 1 cm x 4 m, 5 µm.

3.6.1.3 Procedimento para análise em HPLC-UV

As análises foram realizadas no Depto de Química da UFRGS, no laboratório da Profa Maria do Carmo Roaro Peralba, em HPLC, com detector UV-visível.

A fase móvel foi 990:10 mL (v/v) 30 mM Fosfato de Potássio monobásico (pH 3,6) – metanol (1% de metanol em tampão fosfato monobásico), filtrada em filtro 0,22 µm a um fluxo de 1,2 mL/minuto.

Os cromatogramas foram monitorados a 250 nm e o volume de injeção foi de 2,0 mL. O tempo de retenção do ácido ascórbico e do malondialdeído foram de 1,85 minutos e 2,70 minutos, respectivamente.

3.6.1.4 Comentários sobre o método e tratamento dos dados brutos obtidos

Acido Ascórbico e Malondialdeído (MDA) são dois parâmetros importantes para medir o balanço redox em sistemas biológicos: A vitamina C é um potente antioxidante intra e extracelular, que atua como capturador de ânion-radical superóxido, radicais hidropéroxido e peroxila; reage com hipoclorito e oxigênio simpleto, além de regenerar a vitamina E, quando essa atua como antioxidante, entre outras funções. O malondialdeído (MDA), por sua vez, é um marcador de dano oxidativo, pois deriva da cascata da peroxidação lipídica da membrana celular.

O método de determinação simultânea de Ácido Ascórbico e MDA por HPLC, recentemente desenvolvido por KATEPE (2004), apresenta as vantagens de ser rápido, simples, de fácil execução e requer pouco material, uma vez que a determinação e quantificação de tais substâncias são feitas sob as mesmas condições analíticas.

Os dados brutos obtidos (áreas dos picos) são divididos pelo valor de R^2 mais próximo de 1 na curva de regressão linear da área *versus* concentração dos padrões e multiplicados pelo fator de diluição. Os valores finais das variáveis foram expressos em mmol/L (Valores de referência adotados, **Tabela 9**).

3.6.2 Protocolo para determinação da atividade da Catalase (CAT) em sangue humano, adaptado de AEBI, 1984 (Apêndice 14).

3.6.2.1 Material de análise

Papa de hemácias, obtida de sangue coletado com heparina em sistema *Vacutainer*[®]. Após coleta, o sangue foi centrifugado e as hemácias separadas e armazenadas a - 80° C até a análise, realizada cerca de 1 mês depois.

3.6.2.2 Reagentes e equipamentos

PMSF (PM: 174,20 g/mol): Fluoreto de fenilmetilsulfonila (Sigma Chemical Company, St Louis, MO, USA);

TF: Tampão Fosfato, 50 mM (pH 7,0);

Etanol a 2%;

H₂O₂ 300 Mm;

Espectrofotômetro U-2001 Hitachi com cubeta de quartzo de 3 mL .

3.6.2.3 Fundamento do método e tratamento dos dados brutos

A atividade da catalase em sangue humano é determinada utilizando-se sua função de dismutar peróxido de hidrogênio em água e oxigênio. Tal análise é realizada seja através de decaimento de H₂O₂, seja através do aparecimento de O₂. Neste experimento verificou-se a leitura do decaimento do H₂O₂ em espectrofotômetro no ultravioleta a 240 nm. Os valores brutos obtidos em Δa (delta/min) foram corrigidos por um fator de correção de queda da atividade por diluição do hemolisado (AEBI, 1984), divididos pela absortividade molar de H₂O₂ a 240 nm (ϵ 0,0394 L mmol⁻¹mm⁻¹) e, divididos pela concentração de hemoglobina de cada indivíduo e expressos em KU/gHb (constante de reação de 1ª ordem, K relacionada à unidade de enzima por grama de hemoglobina), cujos resultados foram também comparados com valores de referência (**Tabela 9**).

3.6.3 Protocolo para determinação da atividade da Glutathione peroxidase (GPx) em sangue humano, adaptado de PAGLIA e VALENTINE, 1967 (Apêndice 11).

3.6.3.1 Material de análise

Papa de hemácias, obtida de sangue coletado com heparina em sistema *Vacutainer*[®]. Após coleta, o sangue foi centrifugado e as hemácias separadas e armazenadas a - 80° C até a análise, realizada cerca de 1 mês depois.

3.6.3.2 Reagentes e equipamentos

PMSF (PM: 174,20 g/mol): Fluoreto de fenilmetilsulfonila (Sigma Chemical Company, St Louis, MO USA);

TF: Tampão Fosfato 100 mM (pH 7,0);

Etanol a 2% ;

NAD(P)H (PM: 905,5 g/mol) 0,15 mM Tetrasodium Salt aprox 98%, Acrós Organics;

GSH (PM: 303,7g/mol): Glutationa reduzida, (γ -Glu-Cys-Gly, GSH) Sigma G. 4251, Steinheim, Germany;

GR: Glutationa Redutase (EC 1.6.4.2) Sigma Aldrich, G. 36641, Steinheim, Germany, 500 units, 1U: 1 μ L;

EDTA ultrapuro (PM: 372,24 g/mol): Acido Etilenodiaminotetra-acético, 1 mM. New Jersey, USA;

OBS.: Preparar a mistura com NAD(P)H (20 mL), GSH (20 mL), GR(3 μ L), EDTA (20 mL) e TF (20 mL). Manter em frasco coberto com papel alumínio (volume final 80,3 mL).

TBOOH: Hidroperóxido de *terc*-butila;

Banho maria;

Espectrofotômetro U-2001 Hitachi com cubeta de quartzo de 1 mL.

3.6.3.3 Fundamento do método e tratamento dos dados brutos

A GPx reduz peróxido de hidrogênio e hidroperóxidos alquilílicos em água e álcool, respectivamente. O método mais utilizado está baseado na medida de GSSG usando GR e NAD(P)H. GSSG é imediatamente convertida a GSH com oxidação de NAD(P)H a NADP⁺ e a absorvência é medida a 340 nm relativa à absorvência de NAD(P)H.

Os valores brutos obtidos em delta/min foram divididos pela absortividade molar de NAD(P)H a 340 nm (ϵ 6,22 x 10³ M⁻¹cm⁻¹), corrigida pelo fator de diluição da técnica, divididos pela concentração de hemoglobina de cada indivíduo e expressos em U/gHb (unidade de enzima por grama de hemoglobina) (valores de referência, **Tabela 9**).

3.6.4 Protocolo para determinação da Glutationa (GSH) em sangue humano, adaptado de AKERBOOM e SIES, 1981 (Apêndice 14).

3.6.4.1 Material de análise

Papa de hemácias, obtida de sangue coletado com heparina em sistema *Vacutainer*[®]. Após coleta, o sangue foi centrifugado e as hemácias separadas e armazenadas a - 80° C até a análise, realizada cerca de 1 mês depois.

3.6.4.2 Reagentes e equipamentos

PMSF (PM:174,20 g/mol) Fluoreto de fenilmetilsulfonila (Sigma Chemical Company, St Louis, MO USA) ;

TF: Tampão Fosfato 50 mM (pH 7,0);

Etanol a 2%;

GSSG (PM: 612,66 g/mol): Glutationa oxidada. Sigma Aldrich, Steinheim, Germany;

DTNB 5,5'-ditiobis-(2-ácido nitrobenzóico). Sigma Chemical Company, St Louis, MO, USA;

NAD(P)H Tetrasodium Salt aprox 98%, pm 905,5 g/mol, Acrós Organics;

GR Glutationa Redutase (EC 1.6.4.2) Sigma Aldrich, G. 36641, Steinheim, Germany, 500 units, 1U: 1 µL;

Centrífuga;

Espectrofotômetro FEMTO 700plus com cubeta de quartzo de 1 mL.

3.6.4.3 Fundamento do método e tratamento dos dados brutos

A concentração de Glutationa total (GSH + GSSG) pode ser medida, usando-se 5,5'-ditiobis-(2-ácido nitrobenzóico) e GR. A velocidade de redução de 5',5'-ditiobis-(2-ácido nitrobenzóico) – DTNB é verificada espectrofotometricamente, a 412 nm, comprimento de onda em que é formado 5-tio-2-nitrobenzoato (TNB).

Os dados brutos de absorvência obtidos são subtraídos (amostra - branco), multiplicados pelo fator de diluição da técnica e divididos pela absortividade molar de

TNB a 412 nm (ϵ 13600 M⁻¹cm⁻¹), divididos pela concentração de hemoglobina de cada indivíduo e expressos em U/gHb (Valores de referência, **Tabela 9**).

3.6.5 Protocolo para determinação da atividade da Superóxido Dismutase (SOD) em sangue humano, seguindo o procedimento do kit RANDOX Ransod (Apêndice 15).

3.6.5.1 Material de análise

Papa de hemácias, obtida de sangue coletado com heparina, em sistema *Vacutainer*[®]. Após coleta, o sangue foi centrifugado e as hemácias separadas e armazenadas a -80 °C.

3.6.5.2 Reagentes

PMSF (PM:174,20): Fluoreto de fenilmetilsulfonila (Sigma Chemical Company, St Louis, MO USA);

TF: Tampão Fosfato 10 mM (pH 7,0);

Kit RANDOX (Ransod Superóxido dismutase): com os reagentes (1) Substrato Misto (Xantina Oxidase - XO + 2-(4-iodofenil)-3-(4 nitrofenol)-5-cloreto de feniltetrazol - INT), (2) Tampão, (3) Xantina oxidase e (4) Padrão;

Diluyente de amostra (não incluso no kit);

Centrifuga;

Espectrofotômetro ESPECTRAMAX 250.

3.6.5.3 Procedimento para leitura de SOD em espectrofotômetro

Coloca-se a placa no espectrofotômetro em temperatura de 37 °C por 5 minutos. Retirar do equipamento e, em seguida, pipetar imediatamente 25 µL de XO em todos os pocinhos, inclusive no branco e nos padrões e homogeneizar.

Fazer a leitura em 1 minuto e em 4 minutos.

3.6.5.4 Fundamento do método e tratamento dos dados brutos

Esse método emprega o substrato misto contendo Xantina Oxidase (XO) como fonte de ânion superóxido, o qual irá reagir com o 2-(4-iodofenil)-3-(4-nitrofenol)-5-cloreto de feniltetrazol (INT) presente no substrato misto, para formar o composto vermelho de formazan, detectado a 505 nm.

Os dados brutos de absorvência obtidos em 1 minuto e em 4 minutos são subtraídos ($A_{1\text{min}} - A_{4\text{min}}$), corrigidos por um fator de diluição, aplicado a % de inibição, conforme instruções do kit, divididos pela concentração de hemoglobina de cada indivíduo e expressos em U/gHb. Valores de referência, **Tabela 9**.

3.6.6 Protocolo para identificação da presença de grupo carbonila em plasma humano, adaptado de LEVINE *et al.*, 1990 (Apêndice 16).

3.6.6.1 Material de análise

Plasma obtido de sangue coletado com heparina em sistema *Vacutainer*[®]. Após coleta, o sangue foi centrifugado e o plasma separado e armazenado a -80 °C até a análise, realizada cerca de 1 mês depois.

3.6.6.2 Reagentes e equipamentos

PMSF (pm: 174,20): Fluoreto de fenilmetilsulfonila (Sigma Chemical Company, St Louis, MO USA);

TF: Tampão Fosfato 20 mM;

TCA: Ácido Tricloroacético a 10% (TCA PA Merck, Alemanha). Dissolver 50g de TCA em 100 mL de água MilliQ;

2,4 DNPH (MM: 198,1): Dinitrofenil-hidrazina (Sigma Aldrich, Alemanha), 10 mM em 2 M HCl. Colocar 0,03962 g de DNPH em 20 mL de HCl 2 M;

Guanidina (PM: 95,53): Guanidine hydrochloride, 98% (Acros Organics, New Jersey, USA). 6M em 20 mM de TF. Colocar 11,4636 g em 20 mL de tampão fosfato 20 mM. Ajustar o pH com TCA para 2,3;

Etanol: Acetato de etila (1:1) 1,0 mL;

NaOH: Hidróxido de sódio 0,2 M;

Centífuga;
Vortex;
Espectrofotômetro ESPECTRAMAX 250.

3.6.6.3 Fundamento do método e tratamento dos dados

Esse é o método mais utilizado para determinar proteína carbonilada em plasma.

Os grupos carbonila em proteínas são formados pela oxidação dos aminoácidos lisina, prolina, arginina e treonina.

Os dados brutos de absorvência obtidos são subtraídos (amostra - branco) e são divididos pela absortividade molar dos grupos carbonila a 360 nm (ϵ carbonila $22000 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$), corrigida pelo fator de diluição da técnica, e expressos em nmol/g proteína (valores de referência, **Tabela 9**).

3.7 TRATAMENTO ESTATÍSTICO

Os dados numéricos finais, obtidos após cálculos primários de cada variável, sejam de caracterização da população estudada, sejam de estudo dietético, ou ainda de estudo do balanço redox, foram dispostos em planilha do Excel[®] e submetidos à análise de consistência.

Os dados de caracterização da população estão apresentados em média, desvio padrão no caso das variáveis contínuas (sendo também em mediana para os micronutrientes da dieta e biomarcadores de balanço redox) e em número e percentual nos seus respectivos pontos de corte, no caso das variáveis discretas. Utilizou-se o programa Microcal ORIGIN versão 6.0 para a apresentação dos resultados dos biomarcadores em gráfico.

Os testes estatísticos foram aplicados utilizando-se o programa SPSS (Statistical Package for Social Sciences), versão 11.0.

A análise estatística foi realizada aplicando-se, inicialmente, o teste de Kolmogorov-Smirnov, para verificar a distribuição gaussiana. Para comparação entre

os grupos, foi feito o teste t de Student para as variáveis com distribuição normal e o teste de Mann-Whitney para as variáveis, com distribuição assimétrica.

Tabela 9. Valores de referência adotados para os biomarcadores de balanço redox estudados

Biomarcadores Estudados	Valores de referência Adotados	Fontes	Justificativa
SOD (U/gHb)	1102 - 1601	Kit Ransod Randox	Kit utilizado
CAT (KU/gHb)	130,36 - 192,27 118,8 - 292	ANDERSEN <i>et al.</i> , Clin Chem , 43: 562, 1997. BOGDANSKA <i>et al.</i> , Bratisl Lek Listy , 104: 108, 2003.	Técnica utilizada
GPx (U/gHb)	30 - 44 86,32 - 165,55 28,1 - 74,9	ARMSTRONG, Free Rad Antiox Protocol , 1998. ANDERSEN <i>et al.</i> , Clin Chem , 43: 562, 1997. BOGDANSKA <i>et al.</i> , Bratisl Lek Listy , 104: 108, 2003.	Técnica utilizada
GSH (mM)	1 - 11	SCHAFER e BUETTNER, Free Rad Biol Méd , 30: 1191, 2001.	Técnica utilizada
Ac Úrico (mg/dL)	1,5 - 7,2	Kit Dade Bering Dimension	Kit utilizado
Ascorbato (mmol/L)	Diabéticos 41,91±7,42 Controles 58,9 ± 9,86	KATEPE, LCGC North Am , 22: 362, 2004.	Técnica utilizada
TF (mg/dL)	200 - 360	Kit Spinreact	Kit utilizado
CER (mg/dL)	15 - 60	Kit Spinreact	Kit utilizado
MDA (mmol/L)	Diabéticos 2,63 ± 0,35 Controles 1,48 ± 0,22	KATEPE, LCGC North Am , 22:362, 2004.	Técnica utilizada
Carbonila (nmol/g proteína)	0,4 - 1 1	HALLIWELL E GUTTERIDGE, Free Rad Biol Med , 2002. SHACTER, Drug Metab. Rev. , 32: 307, 2000.	Técnica utilizada

Para análise dos dados foram obtidas as medidas estatísticas: média, mediana e desvio padrão, distribuições absolutas e percentuais e valores da correlação de Pearson ou Spearman (técnicas de estatística descritiva).

Foram utilizados os seguintes testes: t-Student para amostras independentes com variâncias iguais ou com variâncias desiguais (de acordo com o teste F de Levene para igualdade de variâncias), e teste de Mann-Whitney ; teste do Qui-quadrado de Pearson e teste exato de Fisher.

Em todos os testes, foi adotado o nível crítico de 5% para o risco de rejeição da hipótese nula ($p < 0,05$).

Capítulo 4 - RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 CARACTERIZAÇÃO DOS GRUPOS ESTUDADOS SEGUNDO CRITÉRIOS DE INCLUSÃO

Os grupos estudados encaixaram-se rigorosamente nos critérios de seleção estabelecidos, sendo todos, tanto os hipertensos quanto os controles, com idades entre 40 e 60 anos, não fumantes, não obesos e não desnutridos ($IMC \leq 30 \text{ Kg/m}^2$ e $\geq 18,5 \text{ Kg/m}^2$), não diabéticos, com níveis séricos de colesterol ($\leq 200 \text{ mg/dL}$) e glicemia ($\leq 100 \text{ mg/dL}$) normais (**Apêndice 17**), como mostra a **Tabela 10**.

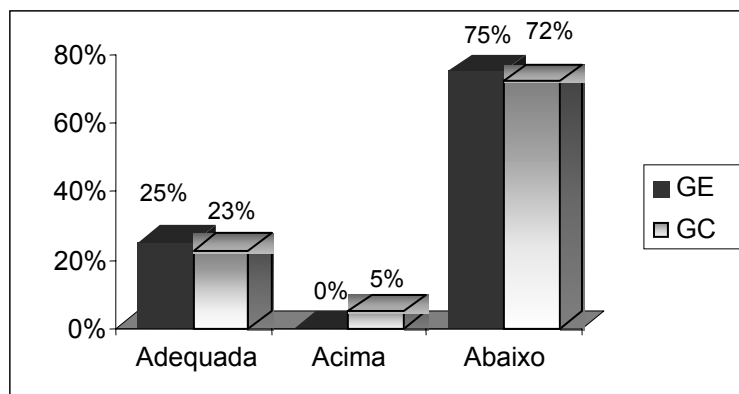
Tabela 10. Caracterização dos grupos estudados segundo alguns critérios de seleção estabelecidos

Variáveis	Grupos de pacientes	
	Hipertensos (H) n = 20	Controles (C) n = 21
Idade (anos) ⁽¹⁾	49,95 ± 6,99	45,85 ± 6,31
Sexo(Feminino :F Masculino:M) ⁽¹⁾	14/20 (70%) F 6/20 (30%) M	15/21 (71,4%)F 6/21 (28,6%) M
IMC (Kg/m^2) ⁽¹⁾	26 ± 2,45	26 ± 2,94
Colesterol sérico (mg/dL) ⁽¹⁾	170,85 ± 13,20	151,01 ± 23,66
Glicemia (mg/dL) ⁽¹⁾	86 ± 10,14	81 ± 10,55
Pressão Arterial Sistólica (mm Hg) ^{(2)*}	139,28 ± 11,41	113,33 ± 12,30
Pressão Arterial Diastólica (mm Hg) ^{(2)*}	95 ± 9,40	73,33 ± 8,87

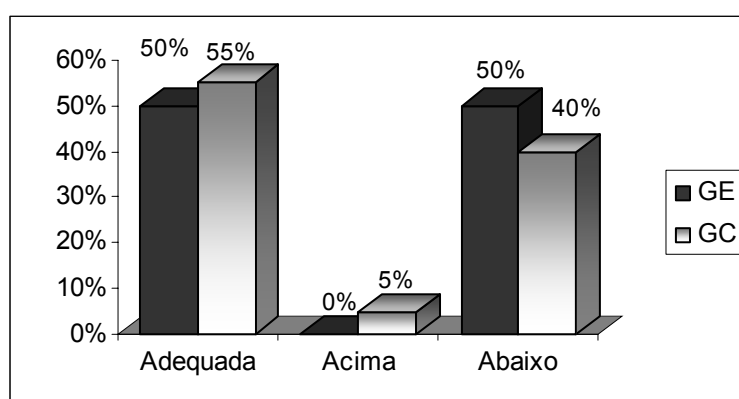
(1) Não significativo . (2) $p < 0,05$; * $< 0,0001$ *

4.2 CARACTERIZAÇÃO DOS GRUPOS ESTUDADOS SEGUNDO COMPOSIÇÃO CORPORAL E ADIPOSIDADE

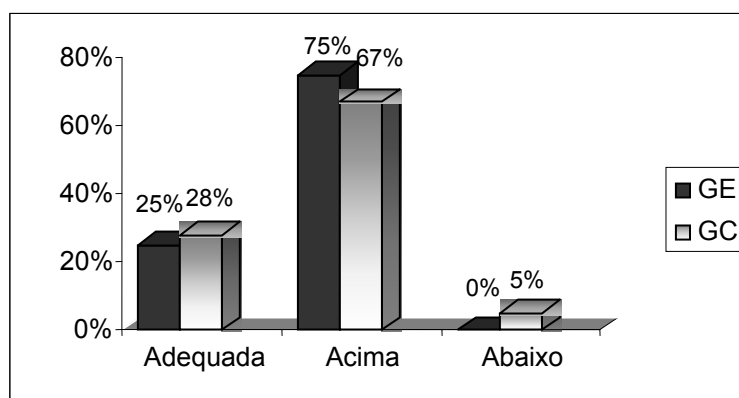
Todos os pacientes incluídos neste estudo tiveram sua avaliação antropométrica aprofundada com análise dos compartimentos corporais (reserva de massa muscular, água e reserva adiposa) através do exame de bioimpedância elétrica (BIA) (**Apêndice 17**), cujos resultados estão ilustrados na **Figura 26**.



A



B



C

Figura 25. Distribuição dos grupos de indivíduos estudados segundo composição corporal através de exame de Bioimpedância Elétrica.

(A) reserva de massa muscular, **(B)** reserva de água corporal **(C)** reserva de tecido adiposo.

Legenda : GE: Grupo Estudo: Hipertensos
GC: Grupo Controle: Normotensos

O perfil observado de composição corporal dos indivíduos entre grupos, foi de reserva muscular abaixo do ideal, reserva de gordura acima do recomendado e água corporal com tendência a distribuição equitativa entre adequada e abaixo do recomendado. Vale salientar que as categorias: “adequada”, “acima” e “abaixo”, resultam de avaliações quantitativas individuais, cujos valores numéricos variam de

indivíduo para indivíduo, daí a não inclusão das faixas quantitativas de cada categoria na **Figura 25**.

Este padrão de composição corporal é compatível com indivíduos sedentários e reforça a homogeneidade do estado nutricional antropométrico entre os grupos.

Além do exame de BIA foi feita análise da distribuição geográfica da gordura corporal, através da medida circunferência da cintura (**Apêndice 17**), para verificar a frequência de adiposidade andróide (**Tabela 11**).

Tabela 11. Distribuição dos grupos estudados segundo circunferência da cintura (CC) e frequência de adiposidade andróide (AA)

	Grupos de pacientes	
	Hipertensos (H) n= 20	Controles (C) n= 21
CC (cm) Homens ⁽¹⁾	CC 94,58 ± 10,11	CC 96,28 ± 4,8
CC (cm)Mulheres ⁽¹⁾	CC 88,60 ± 6,63	CC 90,46 ± 8,08
AA ⁽¹⁾ ⁽²⁾¹	n=7/20 (38%)	n=8/21 (35%),

(1)Não significativo. (2)AA ♀ = CC > 88 cm e AA ♂ = CC > 102 cm

A adiposidade andróide ou visceral é um distúrbio metabólico comum na HAS primária (V DBHA, 2006; GOULART e BENSEÑOR, 2006; IDBSM, 2004), porém verificou-se uma frequência semelhante entre hipertensos e controles, o que mais uma vez reforça a homogeneidade no estado nutricional antropométrico entre grupos. . A obesidade abdominal já alcançou proporções epidêmicas em todo o mundo, atingindo 46% dos adultos americanos e 18,2% a 34,7% dos europeus (FORD, 2003), e representa importante fator de risco cardiovascular. Quando presente, associada à pelo menos dois dos distúrbios: hipertensão, hipertrigliceridemia, hiperglicemia ou HDL-c diminuído, caracteriza o indivíduo como portador de síndrome metabólica (NCEP/ATPIII, 2001). Nenhum dos indivíduos estudados apresentou tal característica.

4.3 CARACTERIZAÇÃO DOS GRUPOS ESTUDADOS SEGUNDO ESTUDO DIETÉTICO

Foram obtidos dados de 3 inquéritos dietéticos recordatórios de 24 horas (IDR24H) de 95% dos hipertensos (19/20 indivíduos) e 2 a 3 IDR24H de 81% dos controles (17/21 indivíduos), sendo 2 IDR24H de 29,41% (5/17 indivíduos) e 3 IDR24H de 70,58% (12/17 indivíduos) dos controles, perfazendo um total de 103 IDR24H. Os resultados, representam a média de ingestão dietética dos 2 a 3 dias de registro alimentar (**Apêndice 18**).

Os inquéritos dietéticos, realizados através de diferentes métodos, possibilitam inferir com maior precisão a quantidade de alimentos efetivamente consumida pelos indivíduos (MONDINI e MONTEIRO, 1994). Constituem a principal ferramenta para avaliar o consumo alimentar, sendo o recordatório de 24 horas a mais utilizada mesmo considerando suas limitações (CRISPIM *et al.*, 2003; VASCONCELOS, 2003; TRIGO, 1993). Segundo WILLETT (1998), a complexidade da dieta humana representa um desafio para qualquer pessoa que pretenda estudar sua relação com a doença, uma vez que o registro e a avaliação precisos da ingestão alimentar são os mais difíceis aspectos de abordagem nutricional (CRISPIM *et al.*, 2003). Conhecer exatamente a ingestão alimentar de indivíduos é sempre uma tarefa complexa pelo fato de as práticas alimentares estarem mergulhadas nas dimensões simbólicas da vida social, envolvidas pelos mais diversos significados, desde o âmbito cultural até as experiências pessoais, conferindo a elas menos objetividade do que se espera ao abordá-las por meio de métodos de investigação sobre consumo alimentar (GARCIA, 2004). Assim, apesar de todos os vieses, que representam desafio para os pesquisadores, o inquérito dietético é o método universal para estudar a dieta humana e relacioná-la à saúde e à doença.

Foram estudados aspectos dietéticos relacionados à hipertensão e ao estresse oxidativo

4.3.1 Consumo de frutas, legumes e verduras

A avaliação dos IDR24H quanto ao número de porções de frutas e de verduras e legumes consumidos (**Tabela 12**), (**Apêndice 18**) revelou valores abaixo do recomendado para a maioria dos indivíduos, sendo em 100% para ambos os grupos quanto ao consumo de legumes e verduras, e, em 84% (16/19 indivíduos) e 70,5% (12/17 indivíduos) para hipertensos e controles respectivamente, quanto ao consumo de frutas. Porém, ao comparar entre grupos, verificaram-se diferenças significativas no consumo de legumes e verduras, que revelou menor consumo entre os hipertensos (**Tabela 12**).

Tabela 12. Distribuição dos grupos estudados segundo consumo de porções de frutas, legumes e verduras

Grupo Alimentar	Grupos de pacientes estudados e valores obtidos				Valor de p
	Hipertensos n= 19/20 (95%)		Controles n= 17/21 (81%)		
	Média e dp ⁽¹⁾	Mediana	Média e dp ⁽¹⁾	mediana	
Frutas (n porções/dia) ⁽²⁾	1,51 ± 1,29	1,00	2,07 ± 1,29	2,00	0,146
Legumes e verduras (n de porções/dia) ⁽²⁾	0,26 ± 0,48	0,00	0,78 ± 0,73	0,67	0,035*

(1) desvio padrão. (2) teste de Mann-Whitney. * diferença significativa a 5,0%.

A participação de frutas, legumes e verduras no valor energético total fornecido pela alimentação das famílias brasileiras, inclusive do nordeste, independentemente da faixa de renda é baixa, tendo variado de 3% a 4% entre 1974-2003 (MS, 2005). O consumo mínimo recomendado é de 400 g/dia (que corresponde a 3 porções de frutas e 3 de legumes e verduras, **Anexo 2**), para garantir 9% a 12% da energia diária consumida, considerando uma dieta de 2000 Kcal. Estes alimentos são fundamentais numa dieta balanceada, inclusive como fonte de importantes anti-oxidantes como vitamina C, carotenóides e flavonóides. Neste sentido, além dos estudos já citados como o DASH STUDY (SACKS *et al.*, 2001) e o INTERHEART STUDY (YUSUF *et al.*, 2004), vale citar uma revisão dos estudos epidemiológicos que corrobora o papel dos compostos bioativos presentes nas frutas e vegetais na proteção cardiovascular (KRIS-ETHERTON *et al.*, 2002), e

um estudo realizado com 116 adultos, que encontrou correlação positiva entre níveis plasmáticos de vitamina C e consumo de frutas e vegetais avaliado através de inquérito dietético (BLOCK *et al.*, 2001).

4.3.2 Ingestão de energia e dos nutrientes estudados

Tabela 13. Distribuição dos grupos estudados segundo ingestão de energia e de nutrientes

Nutrientes	Grupos de pacientes estudados e valores obtidos				Valor de p
	Hipertensos n= 19/20 (95%)		Controles n = 17/21 (81%)		
	Média e desvio- padrão	Mediana	Média e desvio padrão	Mediana	
Energia (Kcal/dia) ⁽²⁾	1.783,65 ± 634,97	1714,58	2.423,03 ± 1.109,96	2184,05	0,093
Carboidratos(g/dia)	258,04 ± 93,18	243,66	335,53 ± 141,27	309,51	–
(% cal totais)	58,36 ± 8,76	57,39	56,73 ± 6,25	57,61	–
Proteínas (g/dia)	80,34 ± 35,10	77,01	108,12 ± 58,69	96,48	–
(% cal totais)	17,79 ± 3,52	16,59	17,47 ± 2,64	18	–
Lipídios (g/dia)	53,51 ± 23,08	16,59	76,23 ± 42,64	68,8	–
(% cal totais)	26,59 ± 5,87	27,58	27,53 ± 4,47	27,43	–
Vit. C (mg/dia)⁽¹⁾	81,68 ± 48,13	73,73	215,34 ± 228,43	128,28	0,045*
Vit. E (mg/dia) ⁽²⁾	14,02 ± 7,86	11,60	15,38 ± 7,54	12,95	0,606
Cobre (µg/dia)⁽²⁾	1345,26 ± 1157,15	1040,00	4294,12 ± 5954,97	1960,00	0,003*
Ferro (mg/dia)⁽³⁾	14,90 ± 4,96	15,55	23,09 ± 14,88	18,98	0,043*
Selênio (µg/dia) ⁽¹⁾	21,82 ± 10,26	21,18	23,85 ± 10,84	21,06	0,568
Zinco (mg/dia)⁽³⁾	9,06 ± 3,61	8,89	14,95 ± 9,50	14,05	0,026*
Sódio (g/dia) ⁽³⁾	3,39 ± 1,53	3,05	5,00 ± 2,97	4,36	0,056
Potássio (g/dia) ⁽²⁾	2,17 ± 1,16	2,05	2,29 ± 1,23	1,97	0,851
Fibras (g/dia) ⁽²⁾	13,70 ± 15,11	7,38	4,98 ± 4,05	3,62	0,107

(1) Teste de Mann-Whitney. (2) Teste t-Student com variâncias iguais. (3) Teste t-Student com variâncias desiguais. * diferença significativa a 5,0%.

4.3.2.1 Ingestão de energia e de macronutrientes

A ingestão de energia foi avaliada (1) individualmente frente às necessidades estimadas de energia (EERT) (**Apêndice 19**), definida como o valor médio de ingestão de energia proveniente da dieta para manutenção do balanço energético considerando o peso, a idade e a atividade física do indivíduo (FISBERG *et al.*, 2005), (**Figura 26**), e (2) considerando o peso como marcador biológico do equilíbrio ou desequilíbrio entre ingestão e gasto de energia, critério recomendado para tal avaliação, considerando o viés da super ou subestimação na informação do dia alimentar pelo paciente (**Tabela 14, Tabela 15**).

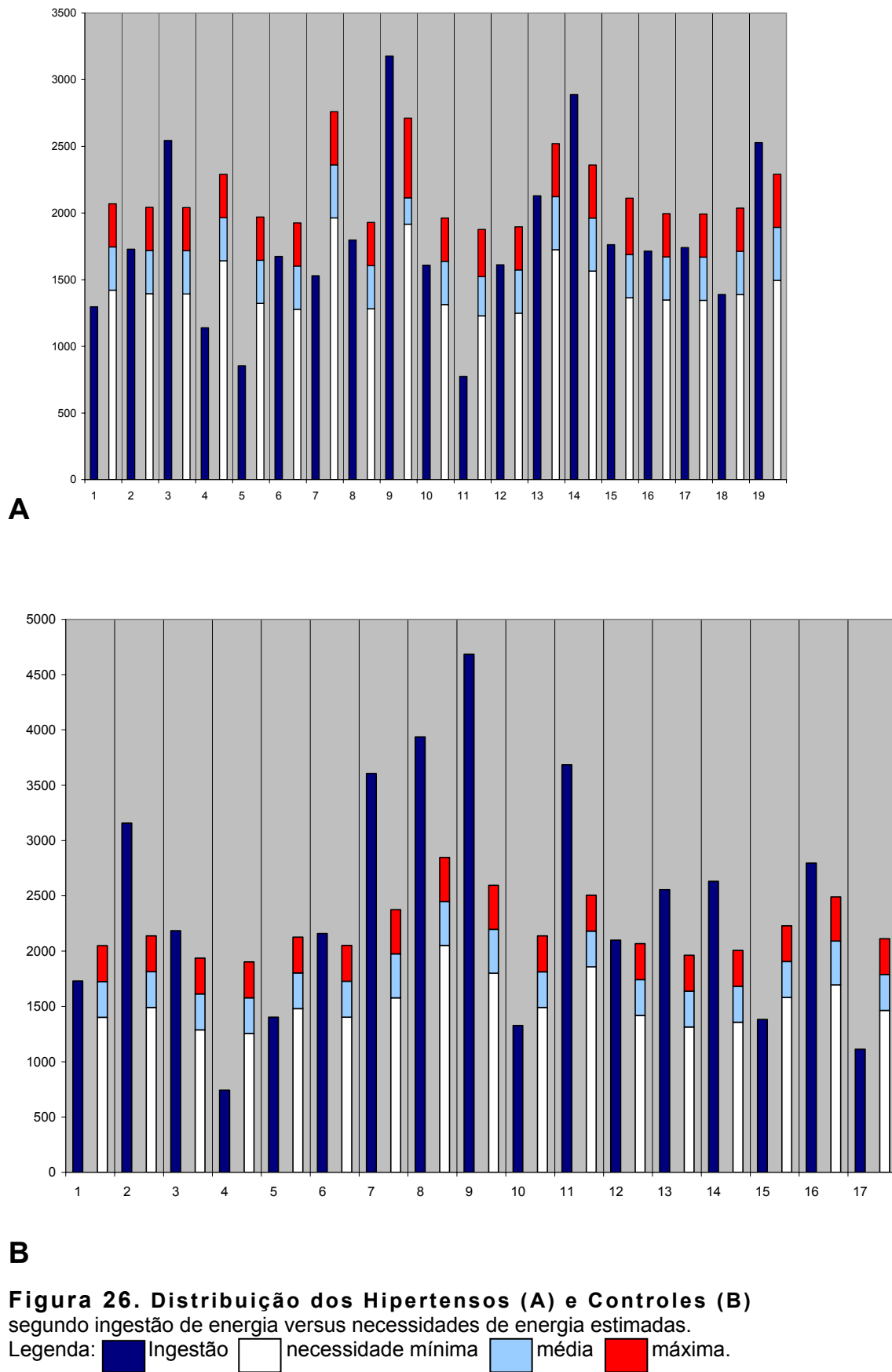
Na **Figura 26**, pode ser visualizada a variabilidade na ingestão energética, frente às necessidades individuais: ingestão abaixo, acima e dentro das necessidades mínima, média e máxima de energia. Ingestão energética acima das necessidades médias foi observada em ambos os grupos (H=12/19; C=12/17, $p=0,0637$, **Tabela 15**). Estes achados corroboram a utilização do IMC como indicador de ingestão calórica total.

Para isto, os grupos estudados foram distribuídos em subgrupos segundo faixas do IMC (FISBERG *et al.*, 2005) (**Apêndice 20**), que indicam, tal como o observado através da avaliação dietética em ambos os grupos, que houve igual predomínio de ingestão excessiva de energia (**Tabela 14**).

Tabela 14. Distribuição dos grupos estudados segundo IMC

	18,5 – 25 Kg/m ² Ingestão adequada de energia	≥ 25 Kg/m ² Ingestão excessiva de energia
Hipertensos (n=19)	5/19 (26,3 %)	14/19 (73,7 %)
Controles (n=17)	7/17 (41,2 %)	10/17 (58,8 %)
Total	12	24
Valor de p ⁽¹⁾	0,3450	

(1) Teste do Qui-quadrado de Pearson.



Voltando à análise individual, por grupo, agora segundo IMC, da prevalência de ingestão excessiva (**Tabela 15**) e da ingestão *versus* necessidades de energia (**Figura 27, Figura 28**), observaram-se a mesma prevalência elevada de ingestão excessiva para ambos os grupos (**Tabela 15**) e a mesma ingestão individual igualmente elevada em ambos os grupos, frente às necessidades calóricas individuais (mínima, média e máxima) (**Figura 27, Figura 28**), independente do IMC.

Tabela 15. Distribuição dos grupos estudados segundo ingestão excessiva de energia e IMC

IMC	Grupos de pacientes estudados e prevalência de ingestão excessiva de energia ⁽²⁾ (IDR24H vs EERT)		Valor de p
	Hipertensos(H)	Controles (C)	
18,5 – 25 Kg/m ² (n=13) ⁽¹⁾	4/5 (80 %)	6/7 (85 %)	1,000
≥ 25 Kg/m ² (n=24) ⁽¹⁾	8/14 (57,1 %)	6/10 (60 %)	1,000
Total	12/19 (63,15%)	12/17 (70,58%)	0,637

(1) Teste Exato de Fisher. (2) considerando a ingestão média de energia. IDR24H: Inquérito Dietético Recordatório de 24 horas. EERT: Estimated energy requirement (necessidade estimada de energia ou calorias).

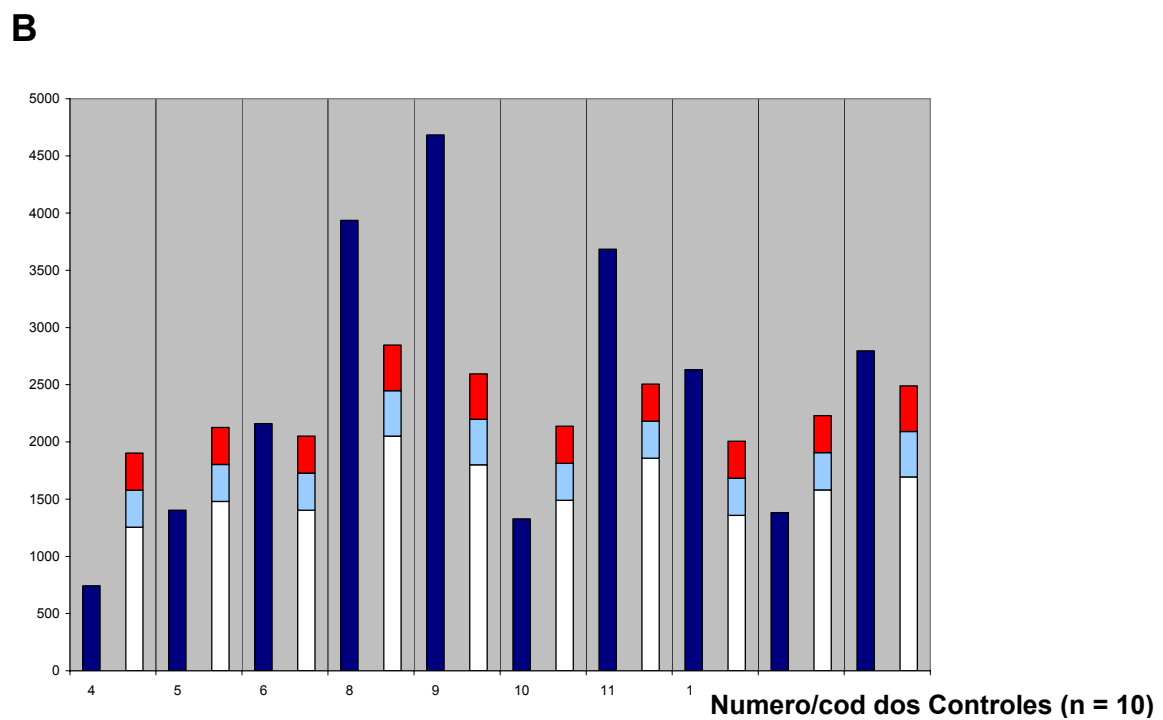
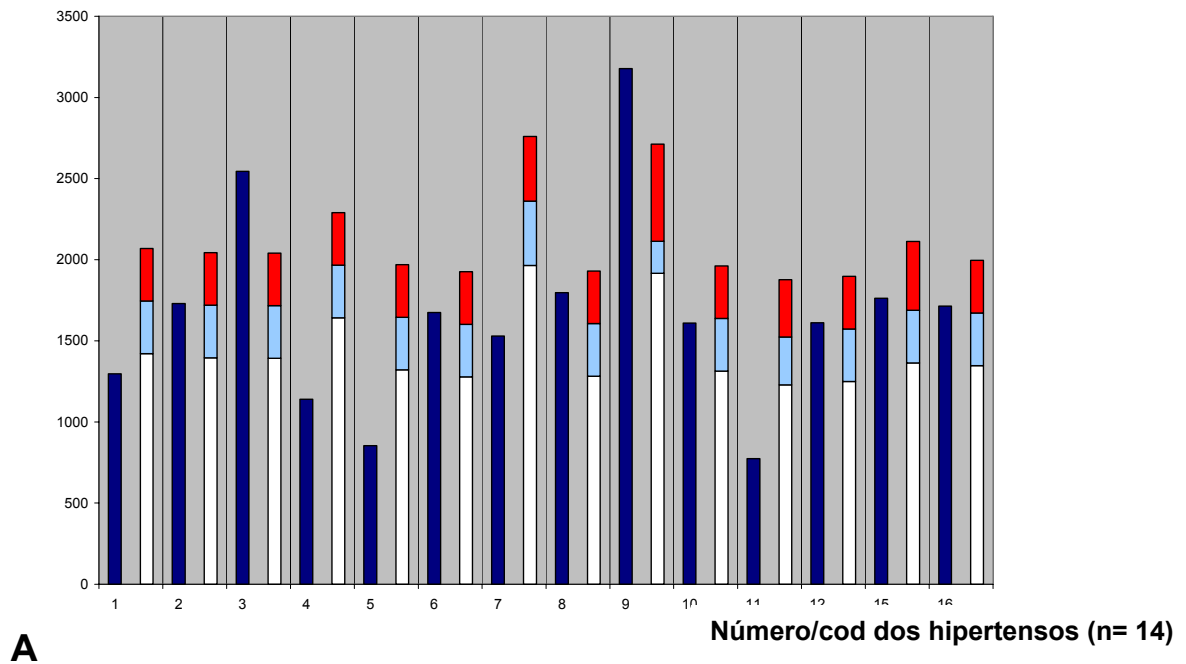


Figura 27. Distribuição dos Hipertensos (A) e controles (B) com IMC ≥ 25 K/m^2 e < 30 Kg/m^2 segundo ingestão de energia *versus* necessidades de energia estimadas.
 Legenda: Ingestão necessidade mínima média máxima.

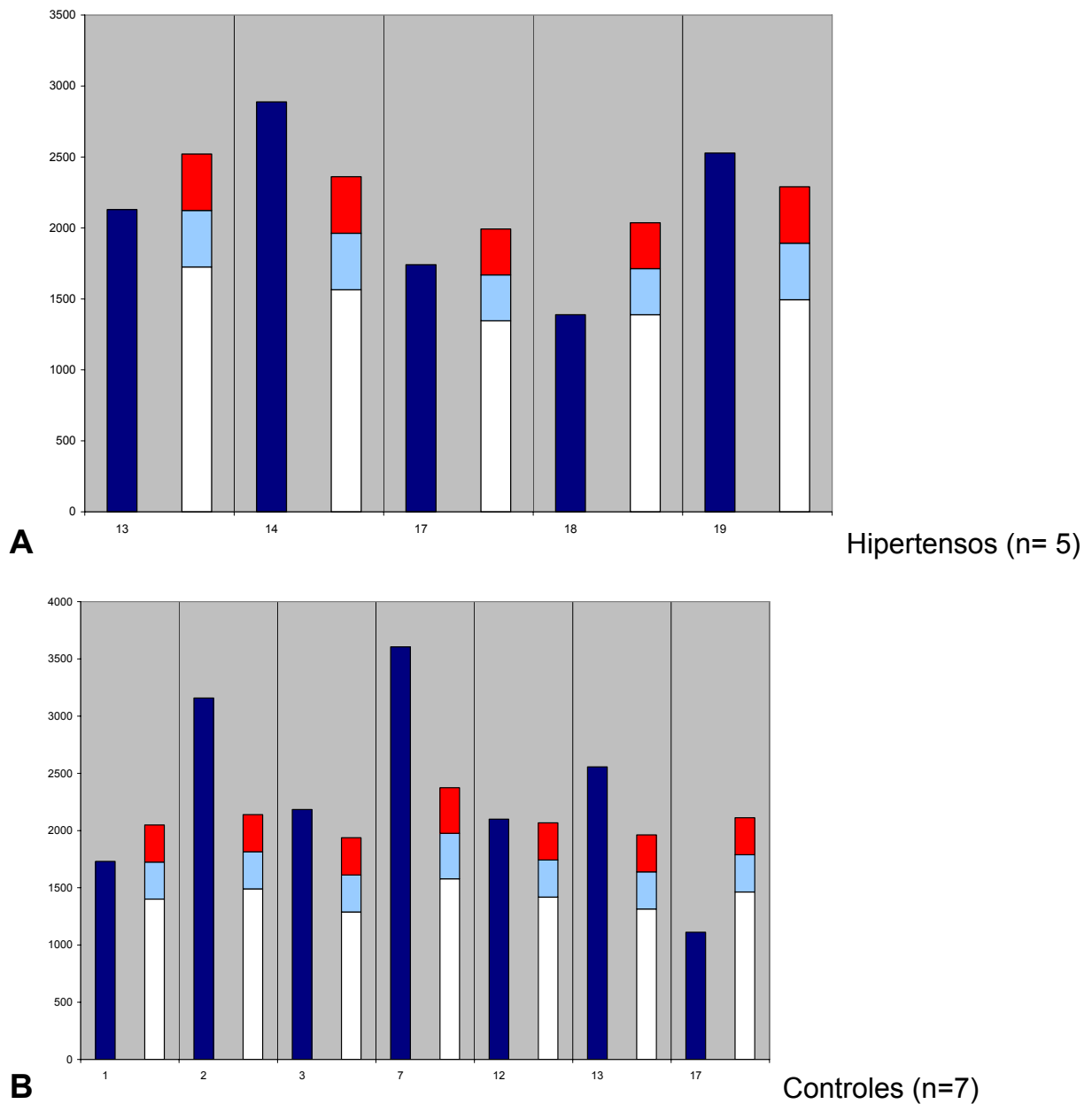


Figura 28. Distribuição dos Hipertensos (A) e controles (B) com IMC $\geq 18,5$ K/m² e < 25 Kg/m² segundo ingestão de energia *versus* necessidades de energia estimadas.

Legenda: Ingestão necessidade mínima média máxima

Quanto à ingestão dos macronutrientes proteínas, carboidratos e gorduras verificaram-se que estava adequada em ambos os grupos, considerando a AMDR da DRI (**Tabela 16**).

Tabela 16. Distribuição dos grupos estudados segundo percentual de macronutrientes provenientes da ingestão energética total média

	HC	Lipídios	Proteínas
Hipertensos (n=19)	58,36 ± 8,76 %	26,59 ± 5,87 %	17,79 ± 3,52 %
Controles (n=17)	56,73 ± 6,25 %	27,53 ± 4,47 %	17,47 ± 2,64 %
AMDR	45 - 65%	20 - 35%	10 - 35%

AMDR: Acceptable Macronutrient Distribution Ranges (intervalos de distribuição aceitável dos macronutrientes).

Diante do estudado, verificou-se que tanto os indivíduos hipertensos quanto os controle, não obesos, apresentavam ingestão excessiva de energia com distribuição adequada dos macronutrientes carboidratos, proteínas e lipídios.

A ingestão de todos os nutrientes descritos a seguir, foi avaliada entre grupos e frente às recomendações nutricionais (DRIs/EAR) e/ou terapêuticas (V DBHA para Na e K em hipertensos) (**Apêndice 21**) para estimar a prevalência de inadequação do consumo dos nutrientes selecionados (SLATER *et al.*, 2004).

4.3.2.2 Ingestão de sódio, de potássio e de fibras

São elementos da dieta de particular importância para hipertensos por estarem envolvidos com o controle da pressão arterial, sendo considerado pela V DBHA (2006) como “de risco”, os alimentos ricos em sódio e “de proteção”, os alimentos ricos em potássio e fibras, baseado, inclusive no estudo DASH, que mostrou benefícios da dieta rica em fibras e potássio entre outros nutrientes protetores, e pobres em sódio no controle da pressão arterial. Estima-se que a adoção de um padrão de dieta DASH promova uma redução na PAS de cerca de 8 a 14 mmHg(SACKS *et al.*, 2001).

O papel do sódio na elevação da PA está estabelecido através de inúmeros estudos experimentais, clínicos e epidemiológicos assim como o do potássio na sua diminuição. Os mecanismos envolvidos incluem vasodilatação direta, natriurese, redução da sensibilidade ao efeito vasoconstritor de norepinefrina e AII, etc; as fibras aumentam a sensibilidade à insulina, reduzem a disfunção endotelial, promovem a natriurese, diminuem a atividade simpática e reduzem a oxidação de LDL, entre outras (HOUSTON, 2005). Todos estes efeitos estão direta ou indiretamente relacionados ao estresse oxidativo da HAS.

Na amostra estudada, verificou-se um padrão de ingestão menor de sódio e potássio e, maior de fibras no grupo hipertenso quando comparado aos controles (**Tabela 13**), porém sem diferença estatisticamente significativa. A ingestão de sódio foi verificada tanto no sódio intrínseco do alimento, quanto no sódio do sal (quantidade estimada) adicionado às preparações (**Tabela 17**). No entanto, em ambos os grupos, essa ingestão estava acima das recomendações das V DBHA (2006) e da UL (Tolerable Upper Intake Level; nível superior tolerável de ingestão), que é de 2,3 g/dia de sódio ou 6g/dia de sal: em 78,9 % dos hipertensos e em 76,5 % dos controles. Esse nível máximo de ingestão tolerável é o valor mais alto da ingestão diária continuada de um indivíduo que aparentemente não oferece nenhum efeito adverso à saúde para quase todos os indivíduos em um mesmo estágio da vida (IM/FNB, 2000; IM/FNB, 2002; IM/FNB, 2004). A redução na ingestão de Na a este nível é capaz de reduzir a PAS em 2 a 8 mmHg. Ao se transformar esses valores para gramas de sal por dia (**Tabela 17**), verificaram-se níveis de ingestão próximos ao da população em geral, que é de 10 a 12 g/dia (V DBHA, 2006).

Tabela 17. Distribuição dos grupos estudados segundo ingestão e origem do sódio da dieta

Sódio	Grupos de pacientes estudados e valores obtidos				Valor de p
	Hipertensos n = 19/20 (95%)		Controles n =17/21 (81%)		
	Media e desvio padrão	mediana	Media e desvio padrão	mediana	
Sal (g/dia) ⁽¹⁾	1,88 ± 0,68	2	2,33 ± 1,05	2,4	0,133
Alimentar (g/dia) ⁽²⁾	1,50 ± 0,99	1,14	2,67 ± 2,21	1,62	0,114
Total (g/dia) ⁽³⁾	3,39 ± 1,53 (8,45 ± 3,8 g sal)	3,05 (7,62 g sal)	5,00 ± 2,97 (12,5 ± 7,4 g sal)	4,36 (10,9 g sal)	0,056

(1) Teste de Mann-Whitney. (2) Teste t-Student com variâncias iguais. (3) Teste t-Student com variâncias desiguais.

Sob o aspecto do estresse oxidativo, tem-se atribuído ao potássio um mecanismo alternativo hipotensor que seria o da inibição da formação de radicais livres (DAKSHINAMURTI e DAKSHINAMURTI, 2001), e, estudo em nível experimental verificou disfunção endotelial associada ao estresse oxidativo em ratos

sal sensíveis submetidos a sobrecarga salina através de dieta (dieta com 8% de NaCl *versus* dieta com 0,3% de NaCl, durante 2 semanas) (BAYORH *et al.*, 2004).

Considerando a recomendação da razão K:Na, de 5:1 (HOUSTON, 2005), os valores encontrados são preocupantes, pois atingiram, em média, uma relação de 0,64:1 e 0,45:1 para hipertensos e controles, respectivamente.

Comparando a ingestão de sódio, potássio e fibras entre grupos com a EAR, (Tabela 7, item 3.4.2.1, Apêndice 21), verificaram-se elevada prevalência de inadequação para ambos os grupos, sem diferenças estatisticamente significativas (Tabela 18).

Considerando a baixa ingestão de frutas, verduras e legumes em ambos os grupos vale comentar que se destacaram como fontes alimentares de potássio, a bebida café, os tubérculos e raízes e o feijão, sendo estes vegetais, também, as principais fontes de fibras na dieta da população estudada.

Tabela 18. Distribuição dos grupos estudados segundo ingestão inadequada de sódio, potássio e fibras *versus* recomendações.

Nutrientes	Grupos de pacientes estudados e % de indivíduos com ingestão inadequada de sódio e de Potássio e Fibras abaixo da EAR		Valor de p
	Hipertensos n = 19/20 (95%)	Controles n = 17/21 (81%)	
Sódio ^(1,2)	15/19 (78,9 %)	13/17 (76,4 %)	1,000
Potássio ^(1,2)	18/19 (94,7 %)	16/17 (94,1 %)	1,000
Fibras ^(1,3)	15/19 (78,9 %)	17/17 (100 %)	0,106

(1) Teste Exato de Fisher. (2) recomendações da V DBHA, 2006. (3) recomendações da EAR. EAR: Estimated Average Requirement (necessidade média estimada).

4.3.2.3 Ingestão de vitaminas anti-oxidantes C e E

Para as vitaminas anti-oxidantes C e E, a ingestão de ambas foi menor no grupo hipertenso, porém verificou-se diferença estatisticamente significativa apenas para a vitamina C (Tabela 13). Comparando os grupos quanto ao percentual de inadequação frente a EAR (Tabela 7, item 3.4.2.1, Apêndice 21), não foram verificadas diferenças estatisticamente significativas (Tabela 19).

Tabela 19. Distribuição dos grupos estudados segundo ingestão inadequada de vitaminas anti-oxidantes C e E.

Vitaminas	Grupos de pacientes estudados e % de indivíduos abaixo da EAR		Valor de p
	Hipertensos n = 19/20 (95%)	Controles n = 17/21 (81%)	
Vit C ⁽¹⁾	9/19 (47,36 %)	5/17 (29,41 %)	0,463
Vit E ⁽¹⁾	9/19 (47,36 %)	6/17 (35,94 %)	0,270

(1) Teste do Qui-quadrado de Pearson.

Estudos observacionais, epidemiológicos e clínicos prospectivos demonstraram que a ingestão dietética de vitamina C ou a concentração do ascorbato plasmático em seres humanos está inversamente correlacionada com PAS e PAD, entretanto, estudos de intervenção controlados têm sido menos consistentes ou inconclusivos ao relacionar administração de vitamina C e PA. Numerosas razões existem para tais resultados incluindo ausência de grupo controle, doses variadas da vitamina, variáveis demográficas, tabagismo, desconhecimento da ingestão dessa e de outras vitaminas interferentes, etc. São atribuídos muitos mecanismos, dentre eles uma melhora da disfunção endotelial (vasodilatação e redução da PA), promoção da diurese, aumento da produção de NO[•], entre outros, além do efeito antioxidante inclusive de reciclagem de vitamina E, (Figura 17), GSH e ácido úrico, discutidas nos itens 1.5.2.4, 1.5.2.6 (HOUSTON, 2005; DAKSHINAMURTI e DAKSHINAMURTI, 2001).

Para vitamina C, esse perfil já era esperado considerando-se a baixa ingestão de frutas, legumes e verduras, apresentada no item 4.3.1, porém é perfeitamente passível de correção com ações de educação nutricional, uma vez que numa dieta cotidiana, utilizando alimentos de fácil acesso, podem-se suprir as necessidades de vitamina C; p. ex., uma laranja e uma fatia de mamão por dia suprem as necessidades nutricionais de um adulto.

A vitamina E, além do seu efeito antioxidante fundamental na peroxidação lipídica, participa na melhora da função endotelial diminuindo a resistência à insulina, aumentando eNOS e NO[•], e os níveis sanguíneos de GSH entre outros mecanismos, através da inibição da proteína cinase C (HOUSTON, 2005; DAKSHINAMURTI e DAKSHINAMURTI, 2001). Verificou-se elevada prevalência de inadequação deste importante nutriente. A elevada frequência no uso de frituras

verificada em ambos os grupos pode representar uma ingestão real ainda menor do que aquela estimada pelas tabelas de composição química de alimentos, haja vista que as mesmas fornecem dados de uma preparação frita, p. ex., em condições adequadas de cocção, o que nem sempre ocorre na forma de preparo utilizada pelas pessoas, pois é comum a fritura em óleo num tempo acima do recomendado. São aspectos também passíveis de correção com ações de educação nutricional.

4.3.2.4 Ingestão dos minerais: ferro, zinco, cobre e selênio

A ingestão de Fe, Zn, Cu e Se foi menor no grupo hipertenso quando comparado ao controle, sendo esta diferença estatisticamente significativa, exceto para o selênio (**Tabela 13**). Quanto à avaliação da adequação da ingestão dos grupos frente à EAR (**Tabela 7**, item **3.4.2.1**, **Apêndice 21**), não se verificaram diferenças estatisticamente significativas (**Tabela 20**).

Tabela 20. Distribuição dos grupos estudados segundo ingestão inadequada de ferro, zinco, cobre e selênio.

Minerais	Grupos de pacientes estudados e % de indivíduos abaixo da EAR		Valor de p
	Hipertensos n= 19/20 (95%)	Controle n=17/21 (81%)	
Ferro ⁽¹⁾	0/19 (0 %)	2/17(11,76 %)	0,216
Zinco ⁽¹⁾	7/19 (36,84 %)	4/17 (23,52 %)	0,387
Cobre ⁽¹⁾	5/19 (26,31%)	1/17 (5,88 %)	0,182
Selênio ⁽¹⁾	19/19 (100 %)	16/17 (94,11 %)	0,472

(1) teste Exato de Fisher. EAR: Estimated Average Requirement (necessidade média estimada).

Ferro e cobre são nutrientes essenciais, intimamente relacionados como discutido no item **1.5.2.8**, cujo excesso ou deficiência causa impedimento da função e até mesmo a morte celular. Cobre é requerido para a função de cerca de 30 enzimas dentre elas a SOD e a Ceruloplasmina. Ferro é requerido para atividade das heme-proteínas dentre elas CAT, proteínas da cadeia de transporte de elétrons, etc. A essencialidade de ambos reside na sua capacidade de participar das reações de oxido-redução, que paradoxalmente são capazes de gerar radicais livres e espécies reativas deletérias à célula (ARREDONDO e NÚÑEZ, 2005). Sob o aspecto

dietético, as diferenças significativas entre os grupos estudados não se repetiram em inadequação frente às recomendações, ou seja, de um modo geral, a ingestão de ferro e cobre, está adequada frente ao recomendado, porém a dieta dos hipertensos contém menos Fe e Cu do que a dos controles. A relevância desse resultado pode estar principalmente no cobre cujos níveis plasmáticos deficientes, atingidos com dieta deficiente de longa data, podem repercutir em aumento do ferro tissular, atividade diminuída de SOD, CAT e GPx, e ainda, em diminuição da atividade de ceruloplasmina sem afetar sua síntese e secreção (URIU-ADAMS e KEEN, 2005). Também tem sido proposto que a deficiência de Cobre induz ao dano cardíaco via produção de ERO associada à baixa atividade de enzimas antioxidantes e que o ONOO^- , espécie reativa encontrada no endotélio sob estresse oxidativo da HAS, pode dissociar Cu^{2+} dos sítios de ligação da ceruloplasmina (URIU-ADAMS e KEEN, 2005). Ainda, em estudo epidemiológico com 10.532 pessoas obteve-se uma curva em U da relação mortalidade por DCV e câncer *versus* ingestão de cobre (KOK *et al.*, 1988). Importante salientar que os indivíduos atingiram a EAR, e que essa discussão se baseia na comparação entre grupos.

O zinco, cuja ingestão também se apresentou menor entre hipertensos é importante constituinte de CuZnSOD, enquanto Cu tem a função catalítica de sofrer alternadamente oxidação e redução. Seu papel na CuZnSOD é estabilizar a enzima. Existe uma relação estreita entre zinco, cálcio, magnésio e potássio em vários sistemas hormonais envolvidos na modulação da PA tais como SRAA e SNS, e baixos níveis séricos de Zn foram correlacionados com HAS entre outras DCNT, em estudos observacionais (HOUSTON, 2005).

Quanto ao selênio, sua importância para o sistema anti-oxidante deve-se ao fato de ser parte do sítio ativo de uma família de selenoproteínas, dentre elas as importantes GPXs. Sua atividade na proteção cardiovascular envolve a proteção da oxidação de LDL, o aumento da produção de prostaciclina vasodilatadora e a modificação da expressão de moléculas de adesão ICAM1 e VCAM envolvidas na injúria vascular (NAVARRO-ALARCÓN e LÓPEZ-MARTÍNEZ, 2000; RAYMAN, 2000; BURK e LEVANDER, 2002; ALISSA *et al.*, 2003;), o que será discutido no item **4.3.5**.

4.3.2.5 Ingestão dos nutrientes com recomendações nutricionais considerando sua atividade anti-oxidante: vitamina C, vitamina E e Selênio.

Os antioxidantes de baixo peso molecular oriundos da dieta são as vitaminas C e E (α -tocoferol), selênio (Se), carotenóides e flavonóides. Para as vitaminas C, E e Se, foram estabelecidas as recomendações nutricionais considerando sua atividade antioxidante além da atividade nutricional (**Tabela 21**). Para os carotenóides, os estudos existentes ainda não foram suficientemente conclusivos para o estabelecimento de recomendações nutricionais, apesar de se ter reconhecido que tais substâncias influenciam as reações bioquímicas do sistema oxidativo (AMAYA-FARFAN *et al.*, 2001). Quanto aos flavonóides, discute-se ainda inclusive, se flavonóides são nutrientes. Isto, porém, não implica em desconsiderar a importância de tais substâncias na dieta, bem como a sua importante e reconhecida atividade antioxidante (COOK e SAUMMAN, 1996; CROFT, 1998; DUTHIE *et al.*, 2000; ARABBI *et al.*, 2004; SKIBOLA e SMITH, 2000; PIETTA, 2000).

Tabela 21. Recomendações nutricionais para antioxidantes na dieta diária de adultos (19 a 70 anos)

	Vitamina C	Vitamina E	Selênio
RDA (Recommended Dietary Allowance). Ingestão dietética recomendada.	Homem 90 mg Mulher 75 mg Fumantes+ 35 mg	Homens e mulheres 15 mg	Homens e mulheres 55 μ g

Fonte: Adaptado de AMAYA-FARFAN *et al.*, 2001.

AMAYA-FARFAN *et al.* (2001), ao fazerem uma síntese das recomendações nutricionais para anti-oxidantes assinala as funções biológicas e indicadores bioquímicos usados como critérios para determinar os requerimentos de anti-oxidantes e o conceito do IM/ FNB, 2000 “Anti-oxidante alimentar é toda substância na dieta capaz de reduzir significativamente os efeitos adversos produzidos por espécies reativas, como aquelas de oxigênio e nitrogênio, e que possuem função normal no organismo” considerando que 1) a Vit C, devido ao seu alto poder redutor, proporciona proteção contra oxidação descontrolada no meio aquoso da célula; 2) a principal função do α -tocoferol é interromper as reações em cadeia da

peroxidação lipídica; 3) Se funciona associado às selenoproteínas e estas recomendações foram estabelecidas com base na ingestão de selênio que promove atividade máxima para a enzima glutathione peroxidase.

A ingestão destes anti-oxidantes foi semelhante entre grupos, com exceção da vit C, que, como já comentado, foi menor no grupo hipertenso (**Tabela 7**, item **3.4.2.1, Apêndice 21**). Também já foi comentado que a prevalência de inadequação frente à EAR foi semelhante entre os grupos. Além disso, é interessante avaliar a ingestão considerando a RDA, que representa a EAR \pm 2 desvios padrões, cota que, ao ser atingida, preserva a atividade anti-oxidante proporcionada pela dieta [90 mg para homens e 75 mg para mulheres de vit C; 15 mg para vit E e 55 μ g para Se, estabelecido pelo IM/ FND (2000)]. A **Tabela 22** ilustra estes aspectos. Vale salientar que nenhum dos indivíduos extrapolou a UL (Tolerable Upper Intake Level, limite de ingestão máxima tolerável), que é de 1000 mg para vit C, 1000 mg para vit E e 400 μ g para Se, estabelecido pelo IM/ FND (2000), com base no efeito adverso da indução de diarreia osmótica, do risco de hemorragias, e de selenose, respectivamente, provocados pelo excesso desses nutrientes (AMAYA-FARFAN *et al*, 2001).

Tabela 22. Distribuição dos grupos estudados segundo ingestão de anti-oxidantes (AO) da dieta e indivíduos com ingestão adequada para EAR e RDA.

AO	Ingestão (media e desvio padrão)	Adequados a EAR (n e % de indivíduos)	Adequados a RDA (n e % de indivíduos)
Vit C (mg/dia)	H: 81,67 \pm 48,12 C: 215,33 \pm 128,28	H: 10/19 (52,63 %) C: 12/17 (70,58 %)	H: 9/19 (47,36 %) C: 12/17 (70,58 %)
Vit E (mg/dia)	H: 14,02 \pm 7,86 C: 15,38 \pm 7,53	H: 10/19 (52,63 %) C: 11/17 (64,70 %)	H: 8/19 (42,10 %) C: 11/17 (64,70 %)
Se (μ g/dia)	H: 21,82 \pm 10,25 C: 23,85 \pm 10,84	H: 0/19 C: 1/17 (5,88 %)	H: 0/19 C: 0/19

EAR: Estimated Average Requirement (necessidade média estimada).

RDA (Recommended Dietary Allowance). Ingestão dietética recomendada.

H: Hipertensos. C: Controles

Estes resultados permitem afirmar que a ingestão de anti-oxidantes pela população estudada, de um modo geral é insuficiente, e isto representa um fator que pode contribuir para o estresse oxidativo, previsível teoricamente para a HAS, como exposto no item 1.

4.3.2.6 Ingestão de nutrientes com função similar aos fármacos anti-hipertensivos

HOUSTON (2005) classifica os nutrientes e compostos da dieta de acordo com a sua similaridade com o mecanismo de ação dos fármacos utilizados no tratamento da HAS. A **Tabela 23** ilustra esta classificação adaptada para os nutrientes estudados bem como o seu nível de ingestão pelos hipertensos comparado aos controles.

Tabela 23. Anti-hipertensivos naturais oriundos da dieta categorizados segundo classe de fármacos anti-hipertensivos

Classe de fármacos anti-hipertensivos	Nutrientes e compostos da dieta	Status de ingestão dos hipertensos	
		vs EAR	vs grupo controle
Diuréticos	K ⁺	94% menor	menor
	Fibras	79% menor	maior
Agonistas α central	K ⁺	94% menor	menor
	Fibras	79% menor	maior
	Restrição de Na ⁺	sem restrição	menor
Vasodilatadores diretos	Vit C	47% menor	menor*
	K ⁺	94% menor	menor
	Fibras	79% menor	maior
	Vit E	47% menor	maior
Bloqueadores de canais de cálcio	Vit C	47% menor	menor*
	Vit E	47% menor	maior
Inibidores Da ECA	Zn	37 % menor	menor*
Bloqueadores de receptores AT1	Vit C	47% abaixo	menor*
	K ⁺	94% menor	menor
	Fibras	79% menor	maior

* diferença significativa a 5%

A exemplo do exposto (**Tabela 22**), esses dados (**Tabela 23**) também permitem comentar que a alimentação dos hipertensos estudados está inadequada sob o aspecto dietoterápico necessário para o controle da HAS.

4.4 CARACTERIZAÇÃO DOS HIPERTENSOS SEGUNDO NÍVEIS PRESSÓRICOS E TERAPIA MEDICAMENTOSA UTILIZADA

Os hipertensos apresentavam níveis pressóricos médios de PAS = $139,28 \pm 11,41$ mmHg e de PAD = $95 \pm 9,40$ mmHg e faziam uso regular de medicação anti-hipertensiva disponíveis no Sistema Único de Saúde – SUS (**Apêndice 22**), segundo esquema de opção terapêutica preconizado pelas IV DBHA (2002), e mantido pela VI DBHA (2006) como ilustra a **Tabela 24**.

Tabela 24. Distribuição dos hipertensos segundo esquema de terapia medicamentosa anti-hipertensiva

Medicamento e posologia	Numero de pacientes e %
Hidroclorotiazida – HCT, 25 mg	6 (30%)
Captopril 25 mg	3 (15%)
Captopril 50 mg	2 (10%)
HCT 25mg + Captopril 25mg	4 (20%)
HCT 50mg + Captopril 50mg	2 (10%)
HCT 25mg + Captopril 25mg + Propanolol 40 mg	1 (5%)
Sem medicação	2 (10%)
Total de pacientes	20 (100%)

Segundo esquema de terapia medicamentosa preconizado pelas V DBHA, o diurético tiazídico (HCT, por exemplo) é o medicamento de escolha para o controle da pressão arterial em monoterapia, uma vez que seu mecanismo anti-hipertensivo está relacionado à depleção de volume e à redução da resistência vascular periférica, fenômenos frequentemente presentes na HAS, devido a mecanismos diversos. Inibidores da enzima conversora da angiotensina - ECA (captopril, por exemplo) atuam bloqueando a transformação da angiotensina I em II no sangue e nos tecidos e, por conseqüência, atenuam a ação vasoconstrictora e de retenção hidrossalina da angiotensina II. O mecanismo anti-hipertensivo dos betabloqueadores (propranolol, por exemplo) é complexo e envolve a redução do débito cardíaco, redução da secreção de renina, readaptação dos barorreceptores e diminuição das catecolaminas nas sinapses nervosas. A associação de fármacos é

uma decisão médica baseada na avaliação individual do paciente. No grupo estudado, 30% faziam uso de diurético, 25% de inibidor da ECA e 30% em uso destas duas drogas associadas.

Do ponto de vista do estresse oxidativo, segundo Wassmann e colaboradores, 2004, as drogas anti-hipertensivas que atuam como anti-oxidantes seriam os inibidores da ECA e os antagonistas dos receptores AT₁ (Losartan, por exemplo) por ação indireta, via inibição SRAA, importante fonte de espécies reativas no endotélio, como discutido na hipótese oxidativa da HAS (**Figura 7**), os betabloqueadores de terceira geração (carvediol e nevigolol, por exemplo) por aumentar a liberação de óxido nítrico e de glutathione na célula endotelial (KALINOWSKI *et al.*, 2003) e antagonistas do canal de cálcio (nifedipina, por exemplo) por aumentar a biodisponibilidade de óxido nítrico na célula endotelial e aumentar a expressão de MnSOD nas células da musculatura vascular lisa (BERKELS *et al.*, 2001). Hipertensos sal sensíveis. i.e, aqueles cujos níveis pressóricos se elevam diante de uma ingestão elevada de NaCl (SULLIVAN, 1991), parecem se beneficiar melhor do efeito anti-oxidante dos inibidores da ECA, uma vez que O₂^{•-} é também responsável pela mediação da retenção renal de sódio (COHUET e STRUIJKER-BOUNDIER, 2006).

No grupo de hipertensos estudado, o uso de inibidor de ECA (captopril), verificado em 60% dos pacientes, sendo 40% em dosagem de 25 mg/dia e 20% em dosagem de 50 mg/dia, requer comentários adicionais. O mecanismo de ação anti-oxidante deste medicamento, mesmo sendo indireto e sem definição de relação dose-resposta, envolve a inibição do SRAA, por inibir a ação da angiotensina II (All) sendo este o elo anti-oxidante. All é um potente estímulo para a produção de ERO na célula endotelial, aumentando a atividade de NAD(P)Hox, provocando, em minutos, mudanças no agrupamento das subunidades da enzima, e uma supra – regulação na expressão de subunidades da enzima, em horas. Além disso, All também supra-regula a atividade de eNOS (**Figura 7**) a qual se acompanha de desacoplamento da enzima e redução na produção de óxido nítrico e aumento na produção de superóxido (WASSMANN *et al.*, 2004). Este efeito foi verificado no estudo de Ward e colaboradores, 2004, que encontraram associação inversa entre F₂isoprostano e número e tipo de medicamento anti-hipertensivo, sendo que 46% dos hipertensos tratados usavam inibidor de ECA e 26% bloqueador de receptor AT1.

A ação anti-oxidante de beta bloqueadores e de antagonistas de receptores AT1 foi constatada em estudo com hipertensos tratados com estes medicamentos, que tiveram os níveis de SOD, CAT, GPx significativamente aumentados e os níveis de 8-oxo-2'-deoxiguanosina e MDA significativamente reduzidos (SÀEZ *et al*, 2004). Em contrapartida, um estudo recente (SKALSKA *et al.*, 2005) verificou aumento da capacidade anti-oxidante total em plasma de hipertensos em uso de diurético tiazídico, e, o interessante é que não se verificou a mesma correlação positiva com Inibidor de ECA e betabloqueador, medicamentos com um mecanismo anti-oxidante estabelecido, como acabado de discutir.

4.5 BIOMARCADORES DE BALANÇO REDOX ESTUDADOS

Os biomarcadores analisados em sangue humano nesse estudo (**Apêndice 23**) podem ser categorizados em quatro grupos(**Tabela 25**):

- (1) Enzimas anti-oxidantes: Superoxido dismutase (SOD), Catalase (CAT) e Glutaciona Peroxidase (GPx),
- (2) Anti-oxidantes de Baixa Massa Molecular(AOBMM): Glutaciona (GSH), Ascorbato (Asc) e Ácido Úrico,
- (3) Proteínas de Transporte de Metais de Transição (PTMT): Transferrina (TRF) e Ceruloplasmina (CER),
- (4) Marcadores de Dano Oxidativo (MDOx): Malondialdeído (MDA) e Carbonila.

Como discutido na introdução (item **1.6**), a área de biomarcadores de balanço redox é desafiadora e encontra-se em constante “ebulição”, com estudos atuais direcionados à padronização, mas, ainda sem perspectivas de completa definição. No presente caso os grupos 1 a 3 são incontestes. Quanto ao grupo 4, os testes realizados foram os possíveis, tendo-se em contas as condições de infra-estrutura e “robustez” dos testes.

Verificaram-se diferenças estatisticamente significativas entre grupos nos biomarcadores CAT ($p=0,013$), GPx ($p=0,0001$), GSH ($p=0,009$), CER ($p=0,015$) e MDA ($p=0,014$).

Estudo epidemiológico com este enfoque, encontrou associação positiva na população em geral, entre aumento do estresse oxidativo e redução no status anti-oxidante com características sócio-demográficas, estilo de vida e fatores de risco cardiovascular (TREVISAN *et al.*, 2001). Na hipertensão, estudos experimentais e clínicos têm demonstrado um aumento na produção de espécies em modelos de ratos geneticamente hipertensos (PARK *et al.*, 2002; RODRIGUEZ-INTURBE *et al.*, 2003; TANITO *et al.*, 2004; SHOKOJI *et al.*, 2003; KISHI *et al.*, 2004; PARAVICINI *et al.*, 2004) e, em pacientes com hipertensão essencial ou primária, hipertensão renovascular, hipertensão maligna e pré-eclampsia (HIGASHI *et al.*, 2002; LIP *et al.*, 2002; LEE *et al.*, 2003; RAIJMAKERS *et al.*, 2004). Todos estes resultados são explicados pelos fatores relacionados a HAS e estresse oxidativo (itens 1.2, 1.3 e 1.4), que envolvem uma rede complexa de mecanismos .

Além da elevada produção de $O_2^{\bullet-}$ na HAS, a reação de $O_2^{\bullet-}$ com NO^{\bullet} ocorre com uma constante de velocidade de $6,7 \times 10^9 \text{ mol L}^{-1} \text{ s}^{-1}$ (CAI e HARRISON, 2000), enquanto que a reação de $O_2^{\bullet-}$ e SOD ocorre em velocidade 4vezes mais lenta $1,6 \times 10^9 \text{ mol L}^{-1} \text{ s}^{-1}$ [GRIENGLING e FITZGERALD, 2003(b)]. A atividade de SOD é favorecida quando a concentração de $O_2^{\bullet-}$ é baixa e a de SOD é alta, o que ocorre em condições fisiológicas (TOUYZ, 2000). Esses aspectos explicariam, em parte, os fenômenos pró-oxidantes do estresse oxidativo da hipertensão arterial.

No outro lado, os fenômenos anti-oxidantes estariam com sua atividade reduzida, o que também favoreceria o estresse oxidativo da HAS. Estudos clínicos recentes, têm demonstrado reduzida atividade de enzimas anti-oxidantes entre hipertensos quando comparados aos controles (KHULLAR, 2004; RÉDON *et al.*, 2003), não estando, ainda, claro se isto seria causa ou conseqüência. O estresse oxidativo num processo crônico como a HAS, poderia consumir as reservas e comprometer a atividade enzimática antioxidante.

Pelo exposto, esperar-se-iam níveis elevados de marcadores de dano oxidativo e níveis reduzidos de anti-oxidantes entre hipertensos quando comparados aos controles, porém verificaram-se diferenças estatisticamente significativas em poucos biomarcadores. Os níveis de CAT e GSH foram menores no grupo

hipertenso quando comparado ao controle (média 68 vs 102 U/gHb e média 5,32 vs 8,96 mM, respectivamente); os níveis de GPx foram maiores (média 20,5 vs 7,7 U/gHb); os níveis de CER foram maiores no grupo hipertenso (média 38,6 vs 33,86 mg/dL); os níveis de MDA foram menores no grupo hipertenso quando comparado ao controle (média 2,8 vs 8,51 mg/dL), (**Tabela 25**).

Tabela 25. Biomarcadores do ambiente redox em sangue de hipertensos e normotensos.

Grupos de Biomarcadores	Grupos de pacientes estudados e valores obtidos (média e desvio padrão, e mediana)		Valor de p
	Hipertensos(H) n=20	Controle (C) n=21	
	Enz. Anti-oxidantes		
SOD (U/gHb) ⁽¹⁾	1498,85± 575,04 1470,00	1649 ± 407,43 1722,00	0,339
CAT (KU/gHb) ⁽¹⁾	68,00 ± 32,83 67,24	102,08 ± 49,36 102,48	0,013*
GPx (U/gHb) ⁽²⁾	20,51± 9,42 21,51	7,77 ± 9,60 2,00	0,0001*
AOBMM			
GSH (mM) ⁽²⁾	5,33 ± 2,87 4,80	8,96 ± 5,19 7,00	0,003*
Ac Úrico (mg/dL) ⁽²⁾	4,08 ± 1,33 3,80	3,49 ± 0,83 3,60	0,239
Ascorbato (mmol/L) ⁽¹⁾	40,53 ± 12,93 37,63	34,58 ± 9,55 32,00	0,315
PTMT			
TRF (mg/dL) ⁽¹⁾	189,60 ± 32,96 188,00	194,14 ± 38,42 189,00	0,687
CER (mg/dL) ⁽²⁾	38,60 ± 8,61 37,00	33,86 ± 3,97 33,00	0,015*
MDOx			
MDA (mmol/L) ⁽²⁾	2,80 ± 4,49 1,42	8,51± 6,83 8,81	0,014*
Carbonila (nmol/gPtna) ⁽²⁾	2,13 ± 1,66 1,71	1,91±1,42 1,67	0,876

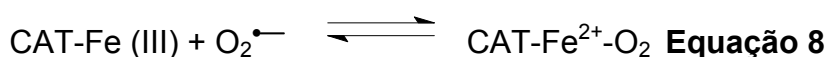
AOBMM: Anti-oxidante de baixa massa molecular. PTMT: proteínas de transporte de metais de transição. MDOx: marcadores de dano oxidativo (1) teste t-Student com variâncias iguais. (2) teste Mann-Whitney. * diferença significativa a 5%.

Caberia ainda discutir aqui os valores obtidos (VO) frente aos valores de referência (VR) adotados (**Tabela 9**), comparados na **Tabela 26**. Exceto nos valores de ácido úrico e ceruloplasmina, observou-se variação em torno da faixa de referência. Isto corrobora a literatura no que se refere particularmente às enzimas antioxidantes, e atesta a necessidade de se estabelecer uma faixa de valores de referência (GUEMOURI *et al.*, 1991; ANDERSEN *et al.*, 1997; BODGANSKA *et al.*, 2003), cuja variabilidade tanto em VR, quanto em unidades em que são expressos e em técnica de análise pode ser facilmente constatada na literatura (ZWART *et al.*, 1999; CHENG *et al.*, 2001; CALLEJO *et al.*, 2002; AGUILAR-SILVA *et al.*, 2002; GAETA *et al.*, 2002; CEBALLOS *et al.*, 2003; IKEDIOBI *et al.*, 2004; ARIAS *et al.*, 2004; NETTO *et al.*, 2004). Isto implicaria em padronizar os métodos de análise no que se refere à técnica em si (geralmente são procedimentos manuais que podem ser realizados por diversos protocolos diferentes), ao preparo dos examinados (existem muitos fatores interferentes relacionados ao estilo de vida, aos hábitos alimentares, aos fármacos, etc), condições de coleta, além de considerar a variabilidade biológica, entre outros fatores interferentes.

4.5.1 Enzimas antioxidantes: SOD, CAT e GPx

Dentre as enzimas antioxidantes estudadas CAT e GPx apresentaram diferenças estatisticamente significativas (**Figura 29**), sendo os valores de CAT menores no grupo hipertenso e os de GPx maiores no grupo hipertenso quando comparados ao controle. Diferente do observado, estudos com enzimas antioxidantes em hipertensos, têm encontrado níveis mais baixos de SOD, CAT e GPx (PEDRO-BOTET *et al.*, 2000; RÉDON *et al.*, 2003; KHULLAR *et al.*, 2004), embora os valores obtidos nesse estudo tenham sido menores no grupo hipertenso, exceto GPx.

A catalase pode ser inibida em presença de $O_2^{\bullet-}$ não adequadamente removido, gerando uma ferroxidase (Equação 8) que não decompõe H_2O_2 rapidamente (HALLIWELL E GUTTERIDGE, 2002)



Este raciocínio explicaria o encontro de níveis elevados de GPx associados a níveis reduzidos de CAT nos hipertensos.

Tabela 26. Comparação dos valores obtidos (VO) dos biomarcadores de balanço redox em sangue de hipertensos e normotensos versus valores de referência (VR) adotados

Biomarcadores Estudados	Valores obtidos por grupo (arredondados)	Valores de referência adotados (arredondados)	VO versus VR
SOD (U/gHb)	H: 724 - 2831 C: 808 - 2324	1102 - 1601	Variações abaixo e acima dos VR
CAT (KU/gHb)	H: 4 - 132 C: 19 - 215	130 - 192 119 - 292	Variações abaixo e acima dos VR
GPx (U/gHb)	H: 1 - 38 C: 0,5 - 27	30 - 44 86 - 165 28 - 75	Variações abaixo e dentro dos VR
GSH (mM)	H: 2 - 15 C: 4 - 21	1 - 11	Variações abaixo, dentro e acima dos VR
Ac Úrico (mg/dL)	H: 3 - 8 C: 2 - 5	1,5 - 7,2	VO dentro dos VR Todos os grupos
Ascorbato (mmol/L)	H: 21 - 70 C: 27 - 53	Diabéticos 34 - 49 Controles 49 - 69	Variações abaixo, dentro e acima dos VR
TRF (mg/dL)	H: 132 - 271 C: 134 - 261	200 - 360	Variações abaixo e dentro dos VR
CER (mg/dL)	H: 22 - 55 C: 29 - 43	15 - 60	VO dentro dos VR Todos os grupos
MDA (Mmol/L)	H: 0,75 - 16 C: 0,8 - 27	Diabéticos 2 - 3 Controles 1 - 2	Variações abaixo e acima dos VR
Carbonila (nmol/gPtna)	H: 0,4 - 6 C: 0,4 - 4	0,4 - 1 1	Variações abaixo e acima dos VR

H: Hipertenso. C: Controle.

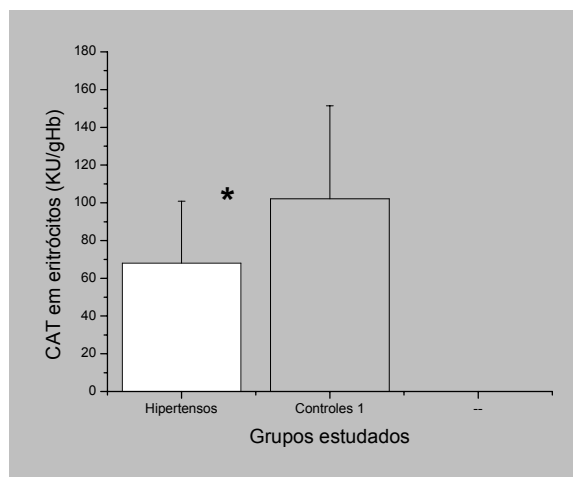
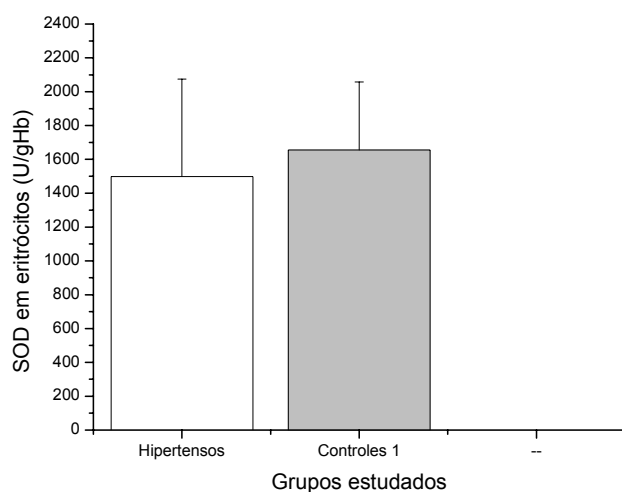
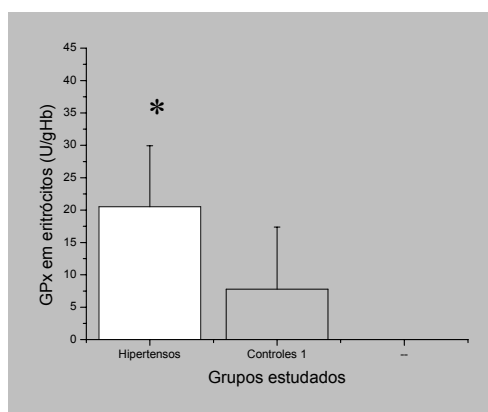
(A) SUPEROXIDO DISMUTASE (SOD)⁽¹⁾B) CATALASE (CAT)⁽¹⁾ p=0,013*(C) GLUTATIONA PEROXIDASE (GPx)⁽²⁾ p=0,001*

Figura 29. Valores obtidos (média \pm dp) das enzimas antioxidantes em eritrócitos de Hipertensos (H) e Controles (C).

(1) Teste t-Sudent com variâncias iguais

(2) Teste de Mann-Whitney, * Diferença significativa a 5%



Em hipertensos sem tratamento medicamentoso tem sido observada menor atividade de GPx (PEDRO-BOTET *et al.*, 2000; BLOCK *et al.*, 2002; RÉDON *et al.*, 2003). Porém, estudo recente com indivíduos saudáveis, comparando homens jovens e mulheres antes da menopausa (IDE *et al.*, 2002) encontrou elevados níveis de GPx nos homens, aumento esse atribuído a uma resposta compensatória ao estresse oxidativo constatado através de 8-*epi*-PGF₂ também maiores entre homens, e, ao efeito protetor do estrógeno entre mulheres. Isto ilustra a complexidade na interpretação de biomarcadores de ambiente redox.

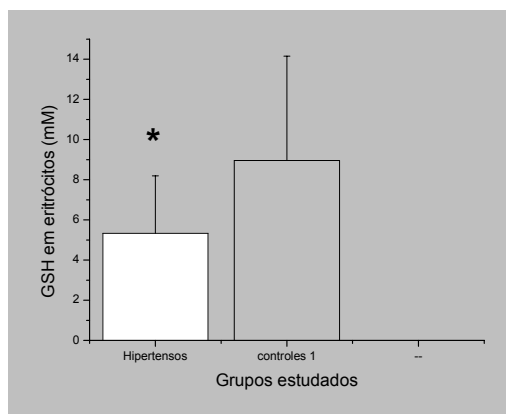
Os resultados verificados neste estudo podem significar uma maior solitação de GPx, pois ela é capaz de reduzir eficientemente ONOO^- e, assim, impedir a oxidação de macromoléculas e a nitração de proteínas. E ainda, apesar de não terem sido observadas diferenças significativas em SOD, pode-se considerar que os níveis reduzidos de SOD seriam devido à reação de $\text{O}_2^{\bullet-}$ e NO^\bullet que é mais rápida que a reação de $\text{O}_2^{\bullet-}$ e SOD e porque SOD só atua mais eficientemente em condições fisiológicas, ou seja, sua atividade é favorecida quando a concentração de $\text{O}_2^{\bullet-}$ é baixa. Quanto à CAT, pode-se considerar que com $\text{O}_2^{\bullet-}$ “desviado” para formar ONOO^- a produção de H_2O_2 via SOD é menor ou mantida em níveis normais não requerendo CAT, além do fato de ser uma enzima delimitada no peroxissoma da célula, e, como citado, ser passível de inibição diante de um possível acúmulo de $\text{O}_2^{\bullet-}$.

4.5.2 Antioxidantes de baixa massa molecular: GSH, ac úrico e ascorbato

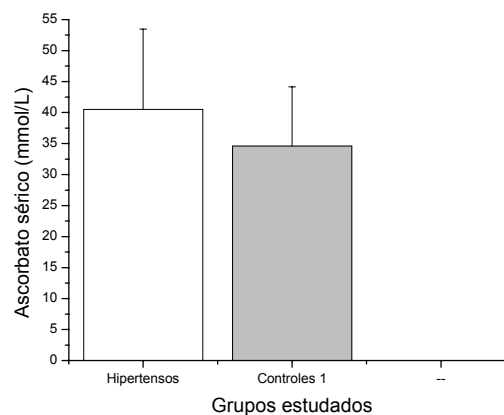
Neste grupo de antioxidantes, verificou-se diferença estatisticamente significativa apenas em GSH (**Figura 30**), cujas reservas estão reduzidas no grupo hipertenso quando comparado ao controle ($p = 0,003$).

Considerando que GSH atua junto com GPx (**Equação 7**), ambas são fundamentais para a defesa frente à peroxidação lipídica provocada por espécies reativas frente ao ONOO^- vascular. Cada unidade de GPx atua consumindo 2 GSH, o mais importante anti-oxidante intracelular, que existe na célula na forma reduzida (GSH) e na forma oxidada (GSSG), sendo vital para a célula a relação $\text{GSH}/\text{GSSG} > 1$, mantida por um eficiente sistema de reciclagem de GSH a partir de GSSG mediante ação da enzima GR (**Figura 11**). O funcionamento dos processos celulares fisiológicos requer o estado reduzido, assim como fenômenos patológicos como doença, apoptose e necrose se acompanham do estado oxidado. Assim, embora a maioria dos estudos utilize a GSH isoladamente, para uma avaliação mais completa do ambiente redox celular, deve ser analisado também a GSSG e a relação GSH/GSSG (SIES, 1999; SCHAFER e BUETTNER, 2001). O estado reduzido se acompanha de elevados níveis de enzimas anti-oxidantes e vice versa,

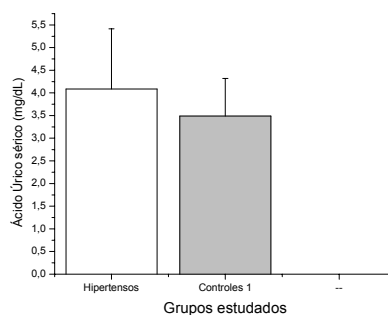
o estado oxidado de níveis reduzidos de enzimas anti-oxidantes, de modo que a razão GSH/GSSG é indicadora de estresse oxidativo.



(A) Glutathiona (GSH)⁽²⁾ $p=0,003^*$



(B) Ascorbato (Asc)⁽¹⁾



(C) Ácido Úrico⁽²⁾

Figura 30. Valores obtidos (média \pm dp) de antioxidantes de baixa massa molecular em sangue de Hipertensos (H) e Controles (C).

(1) Teste t-Sudent com variâncias iguais (2) Teste de Mann-Whitney

* Diferença significativa a 5%

A associação de baixos níveis de GSH com doenças tem sido verificada em diversos estudos: na cirrose hepática (CHAWLA *et al.*, 1984) na AIDS (BUHL *et al.*, 1989; ECK *et al.*, 1989), na fibrose cística (ROUM *et al.*, 1993) no diabetes (SAMEC *et al.*, 1998). Da mesma forma, com a razão GSH/GSSG, sendo verificada uma razão GSH/GSSG <1 na retinopatia da prematuridade (PAPP *et al.*, 1999) e no câncer (NAVARRO *et al.*, 1999).

Na HAS, os resultados de estudo recente também são de baixos níveis de GSH e razão de GSH/GSSG <1 (RÉDON *et al.*, 2003).

Neste estudo, GSSG não foi medida, portanto a razão GSH/GSSG não foi analisada. Os resultados de baixos níveis de GSH em hipertensos são concordantes

com a literatura e seriam explicados pelo estresse oxidativo, uma vez que ERO oxidam GSH a GSSG, levando a uma queda em GSH e GSH se transforma em GSSG no processo de destoxificação de peróxidos.

Quanto ao ácido úrico, os níveis maiores observados no grupo hipertenso não foram estatisticamente diferentes. A hiperuricemia está associada à hipertensão, doença renal e eventos cardiovasculares e resulta da maior reabsorção de urato no túbulo proximal renal, estimulado pela insulina, pelos diuréticos, entre outros mecanismos, de modo que 25% dos hipertensos não tratados, e 50% dos hipertensos em uso de diurético apresentam níveis elevados (JONHSON *et al.*, 2003). Sua atividade antioxidante envolve diferentes reações (com R^\bullet , com ROO^\bullet , com $ONOO^-$, com ONO_2^\bullet) (SIMIC *et al.*, 1989; SANTOS *et al.*, 1999), atuando de forma cíclica, pois pode ser recuperado pelo ascorbato, entre outros; é considerado um potente antioxidante plasmático pois sua concentração no plasma é 10 vezes maior que outros antioxidantes tais como vitamina E e C (GHISELLI *et al.*, 2000).

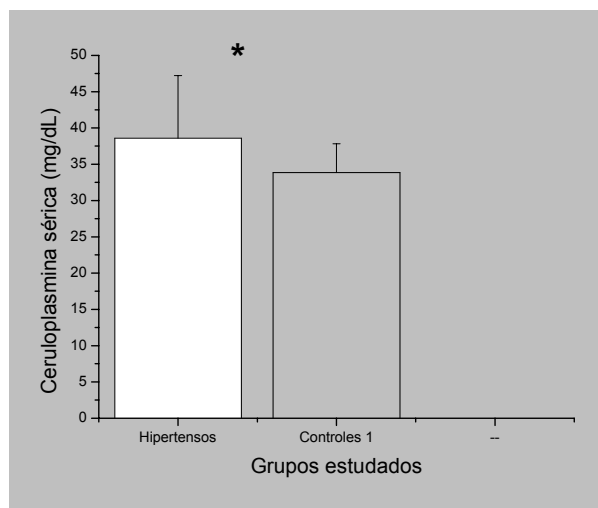
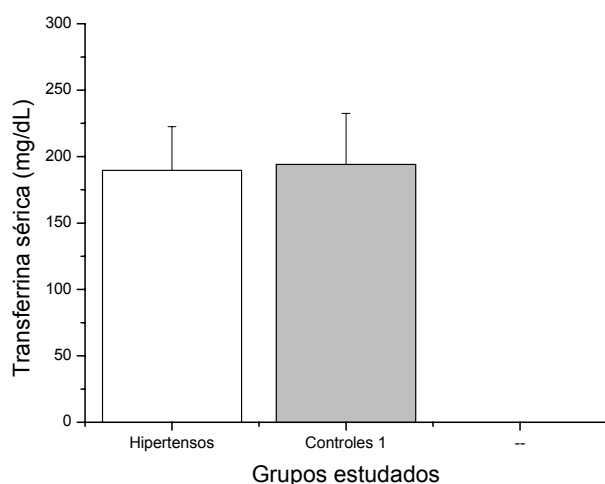
Da mesma forma que com o ácido úrico, observaram-se para o ascorbato, níveis séricos maiores no grupo hipertenso, porém sem diferença estatisticamente significativa. Curiosamente, os níveis de ingestão dietética foram significativamente menores no grupo hipertenso.

4.5.3 Proteínas de transporte de metais de transição: TRF e CER

Os níveis de transferrina foram semelhantes entre grupos, porém os de ceruloplasmina, que é também uma ferroxidase, foram maiores no grupo hipertenso (**Figura 31**), diferença estatisticamente significativa ($p = 0,015$).

Este resultado também representa um importante fator de proteção, haja vista a atividade de ceruloplasmina no transporte do cobre e na oxidação do ferro para captação pela transferrina, ou seja, ela atua sobre os metais de transição mais importantes quanto à capacidade de transferir elétrons em sua forma livre, em sistemas biológicos. Outros mecanismos anti-oxidante, incluem o seqüestro de $O_2^{\bullet-}$, H_2O_2 outras ERO (GOLDSTEIN *et al.*, 1979), a inibição da reação de Fenton pela conversão de Fe^{2+} a Fe^{3+} , devido a sua atividade ferroxidase (HALLIWELL e GUTTERIDGE, 2002; SAMOKYSZYN *et al.*, 1989; GUTTERIDGE *et al.*, 1980) protegendo os tecidos biológicos dos efeitos danosos da descompartimentalização

do ferro, a inibição da oxidação de lipídios (GUTTERIDGE *et al.*, 1980; YAMASHOJI *et al.*, 1983; SAMOKYSZYN *et al.*, 1989; NAKANO *et al.*, 1984; STOCKS *et al.*, 1974; YAMASHOJI e KAJIMOTO, 1983; GOLDSTEIN *et al.*, 1979; AL-TIMIMI *et al.*, 1977), e ao bloqueio de dano a proteínas verificado com inibição na formação de carbonila (KRSEK-STAPLES, 1993), bloqueio de dano ao DNA (GUTTERIDGE *et al.*, 1980), além de proteger a célula de dano e lise provocada por ERO (LOVSTARD, 1982).



(A) TRANSFERRINA (TRF)⁽¹⁾

(B) CERULOPLASMINA (CER)⁽²⁾ p=0,015*

Figura 31. Valores obtidos (média ± dp) de proteínas de transporte de metais de transição em soro de Hipertensos(H) e Controles1(C)

(1) Teste t-Student com variáveis iguais. (2) Teste de Mann-Whitney. * diferença significativa a 5%

Porém, a ceruloplasmina pode atuar como pró-oxidante sob condições de concentrações equimolares de Fe^{2+} e Fe^{3+} . Na presença de Fe^{2+} , a atividade de conversão Fe^{2+} a Fe^{3+} só ocorre parcialmente, o que estimula a peroxidação lipídica. Esta atividade pró oxidante, que requer uma alta razão ferro/ferri (SAMOKYSZYN *et al.*, 1989), pode ser exibida em concentrações fisiológicas de CER e sob condições, nas quais o íon ferro exógeno esteja ausente. Pode ainda inibir eNOS endotelial (BIANCHINI *et al.*, 1999; FLORIS *et al.*, 2000).

Ceruloplasmina é reconhecidamente um marcador de inflamação (URIU-ADAMS e KEEN, 2005), exibindo um aumento duas a três vezes a concentração plasmática normal na infecção, sugerindo um possível papel bactericida (SHUKLA *et al.*, 2006). Por décadas a ceruloplasmina tem sido associada às doenças

neurodegenerativas e às anormalidades do SNC (VASSILIEV *et al.*, 2005), e nos últimos anos tem sido foco de atenção sua função no sistema cardiovascular.

Diversos estudos têm encontrado correlação entre ceruloplasmina e doença cardiovascular: na vasculite e doença arterial periférica (BELCH *et al.*, 1989), no infarto do miocárdio (ADELSTEIN *et al.*, 1956), arteriosclerose (BUSTAMANTE *et al.*, 1976), angina instável (JAYAKUMARI *et al.*, 1992), aneurisma de aorta abdominal (POWELL *et al.*, 1987), e, enquanto estas correlações podem ser parcialmente explicadas pela resposta aguda que acompanha estas patologias (FOX *et al.*, 2000), estudos prospectivos [KOK *et al.*, 1988; SALONEN *et al.*, 1991(a); SALONEN *et al.*, 1991(b); REUNANEN *et al.*, 1992; MÄNTTÄRI *et al.*, 1994] e casos-controle (REUNANEN *et al.*, 1992; MÄNTTÄRI *et al.*, 1994) apontam para a ceruloplasmina como fator de risco cardiovascular (SHUKLA *et al.*, 2006). O mecanismo pelo qual a ceruloplasmina pode atuar na doença cardiovascular parece estar relacionado à oxidação de lipídios e lipoproteínas. *In vitro* este processo ocorre, desde que a proteína esteja com a sua integridade estrutural preservada, envolvendo um único átomo de cobre, e, em presença de $O_2^{\bullet-}$ em cultura de células endoteliais, pode acelerar a velocidade da reação (FOX *et al.*, 1995; FOX *et al.*, 2002). O $ONOO^-$ e H_2O_2 podem dissociar o Cu da CER e assim diminuir sua atividade ferroxidase, e, $ONOO^-$ pode degradá-la como citado anteriormente. Assim, este é o biomarcador cuja atividade pró-oxidante parece predominar em certas circunstâncias, inclusive na doença cardiovascular.

4.5.4 Marcadores de dano oxidativo: MDA e Carbonila

Observou-se uma redução no fenômeno da peroxidação lipídica (PL) entre hipertensos, uma vez que a presença de MDA (o aldeído reativo mais abundante da PL) no soro destes indivíduos foi significativamente menor ($p = 0,014$) que entre os controles (**Figura 32**). A presença de grupos carbonila em níveis iguais pode reforçar o indicativo de que, se o grupo hipertenso estiver sob estresse oxidativo, o $ONOO^-$ seria uma espécie reativa importante, uma vez está citado na literatura que $ONOO^-$ é um pobre indutor de proteínas carboniladas (TIEN *et al.*, 1999; SHACTER, 2000). Vale comentar que na escolha do marcador de estresse oxidativo

a natureza do estresse oxidativo em estudo desempenha um papel de extrema importância, porém é de igual importância a metodologia disponível e a viabilidade de aplicação da técnica de análise, o que particularmente determinou tais escolhas nesse estudo.

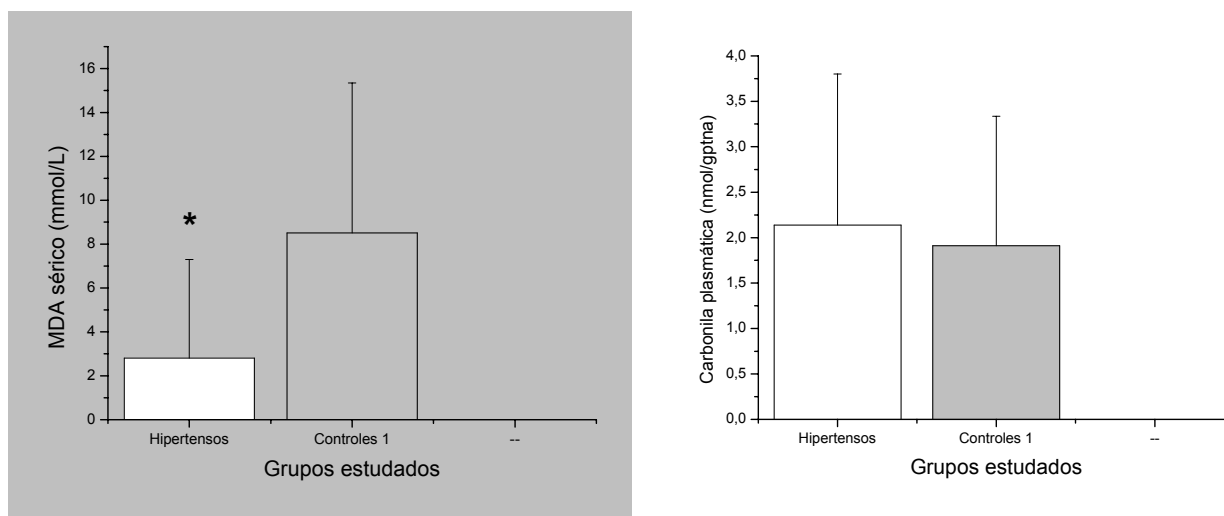
Alguns estudos têm encontrado associação positiva entre níveis elevados de MDA e doenças cardiovasculares como IAM, ICC e HAS (PUCHEU *et al.*, 1995; DIAZ-VÉLEZ *et al.*, 1996; GHIADONI *et al.*, 2003), em hipertensos sem tratamento medicamentoso (RÉDON *et al.*, 2003) e em hipertensos idosos em uso de medicação anti-hipertensiva (KEDZIORA-KORNATOWSKA *et al.*, 2004). Por outro lado, estudos, tanto com hipertensos nunca tratados (CRACOWSKI *et al.*, 2003), como com hipertensos tratados (MINUZ *et al.*, 2002; WARD *et al.*, 2004) não encontraram diferenças nos níveis de F₂-isoprostano, outro marcador de peroxidação lipídica, entre hipertensos e controles, apesar da ação antioxidante das drogas anti-hipertensivas como discutido anteriormente. No entanto, estudo recente (COTTONE *et al.*, 2006) verificou associação positiva entre este marcador de dano e marcadores de inflamação em hipertensos ainda não submetidos à terapia medicamentosa. Outro estudo recente com portadores de insuficiência cardíaca congestiva, classe II a IV, encontrou níveis diminuídos de MDA (SUNDAL *et al.*, 2005).

Os resultados do presente estudo apontam para a possível presença de mecanismos de proteção da peroxidação lipídica associados, pela presença, p. ex., da GPx e da CER, cujos níveis encontrados foram elevados.

4.6 ASSOCIAÇÃO ENTRE O BALANÇO REDOX E A DIETA NOS GRUPOS ESTUDADOS

Entre os indivíduos que completaram o protocolo com o IDR24H (19 hipertensos e 17 controles), estudou-se correlação entre as variáveis dietéticas que apresentaram diferença entre grupos (consumo de legumes e verduras, ingestão de cobre, ingestão de ferro, ingestão de vitamina C e ingestão de zinco) com os biomarcadores que também apresentaram diferença (CAT, GPx, GSH, CER e MDA), (**Apêndice 24**), verificando-se correlação positiva apenas entre a elevada ingestão de vitamina C e os níveis diminuídos de ceruloplasmina observados no grupo

controle como ilustrado na **Tabela 27**. Entre hipertensos foi verificada correlação negativa porém sem significância estatística (**Tabela 27**).



(A) MALONDIALDEÍDO (MDA)⁽¹⁾ p=0,014*

(B) Carbonila⁽¹⁾

Figura 32. Valores obtidos (média \pm dp) de marcadores de dano oxidativo em soro e plasma de Hipertensos (H) e Controles (C).

(1) Teste de Mann-Whitney. * Diferença significativa a 5%.

Tabela 27. Correlação entre ingestão de vitamina C e ceruloplasmina plasmática segundo grupos estudados

Dados	Hipertensos	Controles
Ingestão Vit C	81,68 \pm 58,92 mg/dia	215,34 \pm 106,08 mg/dia
Ceruloplasmina Plasmática	38,60 \pm 8,61 mg/dL	33,86 \pm 3,97 mg/dL
Correlação	$r_p = -0,278$ (p= 0,250)	$r_s = 0,490$ (p= 0,046)*

r_p = correlação de Pearson. r_s = correlação de Spearman. * correlação significativa diferente de zero ao nível de 5%.

4.7 CONSIDERAÇÕES SOBRE O BALANÇO REDOX ENQUANTO SISTEMA INTEGRADO VERIFICADO NESTE GRUPO DE HIPERTENSOS ESTUDADO

Verificaram-se diferenças em CAT, GPx, GSH, CER e MDA (**Tabela 25**). Os hipertensos apresentaram níveis elevados de GPx e CER e níveis diminuídos de

CAT, GSH e MDA (**Tabela 28**). Vale ressaltar que, na população estudada, um viés existente foi o uso de medicamentos, porém o tratamento medicamentoso anti-hipertensivo (principalmente drogas bloqueadores de canais de cálcio e inibidor de ECA) produz um aumento significativo de NO, mas os níveis de enzimas antioxidantes permanecem baixos quando comparados com normotensos (KHULLAR *et al.*, 2004).

Outro aspecto interessante é a possibilidade de CER inibir a oxidação de proteínas, o que foi verificado em cultura de célula endotelial através da formação de carbonila em presença de ceruloplasmina (KRSEK-STAPLES, 1992).

Tabela 28. Resumo das diferenças de balanço redox observadas entre hipertensos e controles

Biomarcadores do balanço redox	Hipertensos	Controles
CAT (anti-oxidante)	↓	↑
GPx (anti-oxidante)	↑	↓
GSH (anti-oxidante)	↓	↑
CER (anti-oxidante – pró-oxidante)	↑	↓
MDA (dano oxidativo)	↓	↑

O fenômeno do estresse oxidativo assim como o sistema anti-oxidante, funcionam de forma integrada, com uma série de eventos co- e inter-relacionados. Esta característica e a complexidade destes processos requerem, necessariamente uma discussão não compartimentalizada. Além disso, há que se considerar a dualidade do ambiente redox: a obtenção de níveis elevados de anti-oxidantes não é necessariamente uma condição desejável, e, tão pouco, níveis reduzidos de anti-oxidantes, deixa de ser uma condição indesejável, pois ambas podem resultar de estresse oxidativo.

Embora não esteja claro se o estresse oxidativo da HAS primária ou essencial é causa ou efeito, a ocorrência do estresse oxidativo na hipertensão foi verificada nesta pesquisa, corroborando estudos já publicados.

4.8 CONSIDERAÇÕES FINAIS

(1) O estabelecimento de critérios de seleção adequados permite a eliminação de fatores interferentes no objeto do estudo e conseqüentemente, a obtenção de resultados mais fidedignos.

(2) Os aspectos relacionados aos métodos de análise desenvolvidos neste estudo possibilitaram o reconhecimento da participação multidisciplinar na definição de processos bem como a verificação da complexidade na escolha, na técnica de quantificação em si e na interpretação de biomarcadores de balanço redox.

Capítulo 5 - CONCLUSÕES

O estudo realizado permitiu concluir que:

- Indivíduos hipertensos apresentaram ingestão excessiva de energia e sódio e ingestão deficiente de potássio, vitamina C, vitamina E, Cobre, Selênio, Zinco e Fibras;
- Indivíduos hipertensos apresentaram níveis sanguíneos de CAT, GSH, e MDA diminuídos e, níveis sanguíneos de GPx e ceruloplasmina aumentados, quando comparados ao controle;
- A ingestão de vitamina C, Cobre e Zinco foi significativamente menor no grupo hipertenso, quando comparados ao controle. Porém não se verificou correlação, entre esse resultado e o conteúdo em CAT, GSH, MDA, GPx e ceruloplasmina;
- Verificou-se associação positiva entre ingestão elevada de vitamina C e níveis diminuídos de ceruloplasmina, no grupo controle;
- Embora os resultados obtidos neste estudo contrariem em parte a literatura, cujos dados, em geral, são de níveis diminuídos de enzimas anti-oxidantes e elevados de marcadores de dano oxidativo em indivíduos hipertensos, a obtenção de níveis elevados de GPx e de baixos níveis de MDA são também concordantes com a hipótese de estresse oxidativo da hipertensão, uma vez que, (1) haveria maior demanda da enzima quando em excesso de ONOO^- , espécie reativa essa característica da hipertensão, e, (2) com a maior concentração de GPx, cuja atuação é significativa sobre peróxidos, haveria diminuição da peroxidação lipídica, com conseqüente diminuição de MDA. Daí o estresse oxidativo da hipertensão, no que se refere a estes biomarcadores, seria explicado por mecanismo alternativo.

- O balanço redox, verificado em sangue, no grupo hipertenso estudado, é concordante com a hipótese de estresse oxidativo da hipertensão, e não apresentou correlação com dieta, apesar dos níveis de ingestão dos nutrientes relacionados com o balanço redox estarem inadequados.
- Os resultados obtidos poderão contribuir para a melhoria das condições de saúde dos pacientes, através de medidas de correção, utilizando a ferramenta da educação nutricional.

Capítulo 6 - PERSPECTIVAS

Conforme comentado, há necessidade de estudos adicionais, ligados principalmente à detecção e quantificação de marcadores de dano oxidativo provocados por ERN, como p.ex., proteínas nitradas. Outra relação importante refere-se à razão GSH/GSSG. Trabalhos nessa linha serão realizados.

Situações extremas podem ser analisadas, em comparação com aquelas normais, ou supostamente sob controle (no caso do hipertenso, em tratamento medicamentoso regular), em um mesmo indivíduo. Neste sentido encontra-se em submissão projeto *“Estado redox de portadores de HAS em crise hipertensiva: uma avaliação segundo técnicas bioquímicas, cromatográficas, espectrofotométricas e eletroanalíticas”* a ser desenvolvido em colaboração com o Laboratório de Radicais Livres do Instituto de Química da Universidade de São Paulo, objetivando verificar o balanço redox em sangue de hipertensos, quando em crise hipertensiva em comparação com os mesmos hipertensos quando fora da crise hipertensiva. Para tal, serão analisados os biomarcadores SOD, CAT, GPx, GSH e GSSG e sua razão, em eritrócitos; TRF, CER, MDA, carbonila e 3-NO₂Tyr em plasma; 8-OHdG em urina e Isoprostano em plasma e em urina.

O presente estudo fundamentalmente interdisciplinar abre um leque de perspectivas, destacando-se as seguintes contribuições:

1) Para a população estudada:

Retorno para a população estudada em aspectos relativos ao diagnóstico do estado nutricional, à qualidade da sua alimentação, dados que serão utilizados como instrumento de educação nutricional, bem como a importância da regularidade no uso da medicação anti-hipertensiva, inclusive no controle do estresse oxidativo. Esta é uma perspectiva concreta, já iniciada, e possível de ser concluída em curto prazo.

2) Para o estudo de inquéritos dietéticos:

Contribuir através da experiência vivenciada, para o estabelecimento de padrões para o estudo da dieta e sua relação com a saúde e a doença, com publicação dos resultados aqui obtidos, no fortalecimento da integração iniciada com outros centros envolvidos na discussão do estudo de validação dos inquéritos dietéticos (RIBEIRO e CARDOSO, 2002; CRISPIM *et al.*, 2003; CADE *et al.*, 2002) .

3) Para o estudo dos biomarcadores de estresse oxidativo:

Contribuir através da experiência vivenciada para fomentar estudos de biomarcadores de balanço redox, no que se refere à especificidade, à técnica e ao procedimento de coleta e determinação, bem como a sua interpretação.

3) Para o estudo da Hipertensão Arterial Sistêmica:

Contribuir para integrar áreas inter-relacionadas através do conhecimento químico, bioquímico, clínico, nutricional e epidemiológico, da doença crônica não transmissível de maior impacto na morbi-mortalidade cardiovascular da população.

4) Para o ensino, a pesquisa e a extensão:

Fortalecer linhas de pesquisa em estudos afins intra-institucionalmente envolvendo o Instituto de Química e Biotecnologia, a Faculdade de Nutrição, e o Hospital Universitário da UFAL, entre outros setores, com a comunidade, com a participação de outros centros do estado, a exemplo do LACEN e HEMOAL, bem como de Instituições parceiras de outros estados, a exemplo do Instituto de Química da USP.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDALLA, D.S.P. Antioxidantes. Conceitos básicos e medidas terapêuticas. **ARS CVRANDI**, v.6, p.141-163, 1993.

ABE, J-I.; BRADFORD, C. B. Reactive oxygen species as mediators of signal transduction in cardiovascular disease. **Trends Cardiovascular Medical**, v. 82, p.59-64, 1998.

ABREU, F.C.; FERRAZ, P.A.L.; GOULART, M.O.F. Some applications of electrochemistry in biomedical chemistry. Emphasys on the correlation of electrochemical and bioactive properties. **Journal of the Brazilian Chemistry Society**, v. 50, n.11, p.3337-3340, 2002.

ABUDU, N.; MILLER, J.; ATTAELMANNAN, M. Levinson, S. S. Vitamins in human arteriosclerosis with emphasis on vitamin C and vitamin E. **Clinica Chimica Acta**, v. 339, p.11-25, 2004.

ABUJA, P. M.; ALBERTINI, R. Methods for monitoring oxidative stress, lipid peroxidation and resistance of lipoproteins. **Clinica Chimica Acta**, v.306, p.1-17, 2001.

ADELSTEIN, S. J.; COOMBS, T. L.; VALLEE, B. L. Methalloenzymes and myocardial infarctation. The relation between serum copper and ceruloplasmin and its catalytic activity. **New England Journal of Medicine**, v. 255, p.105-109, 1956.

AEBI, H. Catalase in vitro **Methods in Enzimology**, v. 105, p.121-127, 1984.

AGUILAR-SILVA, R. H.; CINTRA, B. B.; MILANI, S.; MORAES, T. P.; TSUJI, H. Estado antioxidante do sangue como indicador da eficiência do treinamento em nadadores. **Revista Brasileira de Ciência e Movimento**, v. 10, n.3, p. 7-11, 2002.

AKERBOOM, T. P. M.; SIES, H. Assay of glutathione disulfide, and glutathione mixed disulfides in biological samples. **Methods in Enzimology**, v. 77, p. 373-382, 1981.

ALISSA, E. M.; BAHIJRI, S. M.; FERNS, G. A. The controversy surrounding selenium and cardiovascular disease: areview of the evidence. **Medical Science Monitory**, v. 9, n. 1, p. RA9-RA18, 2003.

AL-TIMIMI, D. J.; DORMANDY, T. L. The inhibition of lipid autoxidation by human ceruloplasmin. **Biochemistry Journal**, v. 168, p.283-288, 1977.

AMAYA-FARFAN, J.; DOMENE, S. M. A.; PADOVANI, R. M. DRI. Síntese comentada das novas propostas sobre recomendações nutricionais para antioxidantes. **Revista de Nutrição de Campinas**, v.14, n.1, p.71-78, 2001.

ANDERSEN, H. R.; NIELSEN, J. B.; GRANDJEAN, P. Antioxidative enzymes activities in human erythrocytes. **Clinical Chemistry**, v. 43, n.4, p. 562-568, 1997.

ANDERSON, N. L.; ANDERSON, N. G. The human plasma proteome: history, character and diagnostic prospects. **Molecular Cell Proteome**, v.1, n.11, p. 845-867, 2002.

ARABBI, P.R.; GENOVESE, M. I.; LAJOLO, F. M. Flavonoids in vegetable foods commonly consumed in Brazil and estimated ingestion by the Brazilian population. **Journal of Agriculture Food Chemistry**, v. 52, p. 1124-1131, 2004.

ARREDONDO, M.; NÚÑEZ, M. T. Iron and copper metabolism. **Molecular Aspects of Medicine**, v. 26, p. 313-327, 2005.

ARGUELLES, S.; GARCIA, S.; MALDONADO, M.; MACHADO, A.; AYALA, A. Do serum oxidative stress biomarkers provide reasonable index of the general oxidative stress status? **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1674, p. 251-259, 2004.

ARIAS, L. F.; MERJIA, N. ; SANCHÉZ, C.; PELÁEZ C.; CEBALLOS, A. Actividad de la asparato aminotransferasa y la creatinkinasa y su relación con la actividad de la glutatión peroxidasa en caballos pura sangre inglés, antes e después de una carrera de 1100 metros. **Revista Colombiana del Ciencias Pecuarias**, v.17, n.2, p.134-140, 2004.

ARMSTRONG D., ed. **Free Radicals and Antioxidant Protocols. Methods in Molecular Biology**. New Jersey, Human Press, v. 108, 1998. 455 p.

BANDYOPADHYAY, D.; CHATTOPADHYAY, A.; GHOSH, G.; DATTA, A. G. Oxidative stress-induced ischemic heart disease: protection by antioxidants. **Current Medicinal Chemistry** , v. 11, p. 369-387, 2004.

BARRRETO, R. L.; CORREIA, C. R. D. Óxido nítrico: propriedades e potenciais usos terapêuticos. **Química Nova**, v. 28, n. 6, p. 1046-1054, 2005.

BAST, A.; HAENEN, G. R. M.; DOELMAN, C. J. A. Oxidants and Antioxidants: state of the art. **American Journal of Medicine**, v.91, S3C, p. 2S-13S , 1991.

BATLOUNI, M. Hipótese oxidativa da aterosclerose e emprego dos antioxidantes na doença arterial coronária. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 68, n. 1, p.25-68, 1997.

BAYORH, M. A.; GANAF, A. A.; SOCCI, R. R.; SILVESTROV, N.; ABUKHALAF, I. K. The role of oxidative stress in salt-induced hypertension. **American Journal of Hypertension**, v. 17, p. 31-36, 2004.

BECKETT, G. L.; HAYES, J. D. Glutathione S-transferases: biomedical applications. **Advanced Clinical Chemistry**, v. 30, p.281-380, 1993.

BELCH, J.J.; CHOPRA, M.; HUTCHISON, S.; LORIMER, R.; STURROCK, R. D.; FORBES, C.D.; SMITH, W. E. radical pathology in chronic arterial disease. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 6, n. 4, p.375-378, 1989.

BENZIE, I. F. F.; STRAIN J. J. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. **Analytical Biochemistry**, v. 239, n.1, p. 70- 76, 1996.

BERGAMINI, C. M.; GAMBETTI, S.; DONDI, S.; CERVELLATI, C. Oxygen, reactive oxygen species and tissue damage. **Current Pharmaceutical Design**, v. 10, p. 1611-26, 2004.

BERKELS, R.; EGINK, G.; MARSEN, T. A.; BARTELS, H.; ROESEN, R.; KLAUS, W. Nifedipine increases endothelial nitric oxide bioavailability by antioxidative mechanisms. **Hypertension**, v. 37, p.240-245, 2001.

BERLETT, B. S.; STADTMAN, E. R. J. Protein oxidation in aging, disease and oxidative stress. **Journal of Biological Chemistry** , v. 272, n.33, p. 20313-20316, 1997.

BESWICK, R. A.; DORRANCE, A. M.; LEITE, R.; WEBB, R. C. NADH/NADPH oxidase and enhanced superoxide production in the mineralocorticoid hypertensive rat. **Hypertension**, v. 38, n.1107-1111, 2001.

BIANCHINI, A.; MUSCI, G.; CALABRESE, L. Inhibition of endothelial nitric-oxide syntase by ceruloplasmin. **Journal of Biological Chemistry**, v. 274, n. 29, p. 20265-20270, 1999

BISQUERRA, R.; SARRIERA J.C.; MARTÍNEZ. **Introdução à estatística. Enfoque informático com o pacote estatístico SPSS**. Porto Alegre, Artmed, 2004, 255p.

BLOCK, G.; HUDES, M.; MANDEL, S.; HELZLSOUER, K. Which plasm antioxidants are most related to fruit and vegetable consumption? **American Journal of Epidemiology**, v. 154, n.4, p.1126-1135, 2001.

BLOCK, G.; DIETRICH, M.; NORKUS, E. P.; MORROW, J. D.; HUDES, M.; CAAN, B.; PACKER, L. Factors associated with oxidative stress in human populations. **American Journal of Epidemiology**, v. 156, p.274-285, 2002.

BOGDANSKA, J. J.; KORNETI, P.; TODOROVA, B. Erythrocyte superoxide dismutase, glutathione peroxidase and catalase activities in healthy male subjects in republic of macedonia. **Bratislavske Lekarske Listy**, v. 104, n.3, p. 108-114, 2003.

BRADFORD, M . A Rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, v. 72, p. 248-254, 1976.

BUETTNER, G. R. The pecking order of free radicals and antioxidants: lipidic peroxidation, α -Tocopherol, and ascorbate. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 300, n. 2, p. 535-543, 1993 .

BUHL, R.; HOLROYD, K.; MASTRANGELI, A.; CANTIN, A. M.; JAFFE, H. A.; WELLS, F. B.; SALTINI, C.; CRYSTAL, R. G. Systemic glutathione deficiency in symptom-free HIV-seropositive individuals. **Lancet**, v. 2, n. 8675, p.1294-1298, 1989.

BURK, R. F.; LEVANDER, O. A. Selênio. In: Shils, M. E.; Olson, J. A; Shike, M.; Ross, A C. **Tratado de Nutrição Moderna na Saúde e na Doença**. São Paulo, Manole, v. I, 2002, 1026p., p.285 – 296.

BURTIS, C. A.; ASHWOOD, E. R. **Tietz. Fundamentos de química clínica**. 4a ed. Rio de Janeiro , Guanabara koogan, 2002. 836p.

BUSTAMANTE, B. J.; MATEO, M. M. C.; DE QUIROS, F.J.; MANCHADO O. O. Zinc, copper and ceruloplasmin in atherosclerosis. **Biomedicine**, v. 25, n.7, p. 244-245, 1976.

BYERS, T. Food frequency dietary assessment: how bad is good enough?. **American Journal of Epidemiology**, v.154, n.4, p.1087-1088, 2001.

CADE, J.; THOMPSON, R.; VICTORIA, B.; WARM, D. Development, validation and utilization of food-frequency questionnaires – a review. **Public Health Nutrition**, v. 5, n.4, p.567-587, 2002.

CAI, H.; HARRISON, D. G. Endothelial dysfunction in cardiovascular diseases. The role of oxidant stress. **Circulation Research**, v. 87, p. 840-844, 2000.

CALLEJO, F. J. G.; ALBORCH, M. H. O.; VILA, M. M. V.; JULIÀN, E. N. F; GALAUD, L. B.; ALGARRA, J. M. Perfil oxidativo de la infección amigdalár. Estudio de las enzimas antioxidantes en amígdala y sangre. **Acta Otorrinolaringológica Española**, v. 53, p. 398-404, 2002.

CALVO-MARZAL, P.; CHUMBIMUNI-TORRES, K.Y.; HOEHR, N. F.; NETO, G. D.; KUBOTA, L. T. **Sensors Actuators B-Chemistry**, v.100, n.3, p. 333-340, 2004.

CAO, G.; PRIOR, R. L. Comparison of different analytical methods for assessing total antioxidant capacity of human serum. **Clinical Chemistry**, v. 44, n. 6, p.1309-1315, 1998.

CARDOSO, S. L. Fotofísica de carotenóides e o papel antioxidante de β -caroteno. **Química Nova**, v.20, n.5, p. 535-540, 1997.

CAREY, F. A.; SUNDBERG, R. J. Free-radical reactions. In: _ **Advanced Organic Chemistry**. 3 ed. New York, Plenum Press, 1990, p. 651-727, 802 p.

CARR, A. C.; ZHU, B-Z.; FREI, B. Potential antiatherogenic mechanisms of ascorbate (vitamin C) and α -tocopherol (vitamin E). **Circulation Research**, v. 87, p. 349-354, 2000.

CEBALLOS, A.; CORREA, H.; LOAIZA, J.; VILLA, N. Actividad sanguínea de glutatión peroxidasa como indicador del balance metabólico nutricional de selenio en rebaños lecheros de Manizales, Colombia. **Revista Colombiana del Ciencias Pecuárias**, v. 16, n.1, p.19-25, 2003.

CHAMPLAIN, J.; WU, R.; GIROUARD, H.; KARAS, M.; MIDAOU, A. E.; LAPLANTE, M-A.; WU, L. Oxidative stress in hypertension. **Clinical and Experimental Hypertension**, v. 26, n 7 & 8, p. 593-601, 2004.

CHAUHAN, A.; CHAUHAN, V.; BROWN, W. T.; COHEN, I. Oxidative stress in autism: increased lipid peroxidation and reduced serum levels of ceruloplasmin and transferrin – the antioxidant proteins. **Life Science**, v.75, p. 2539-2549, 2004.

CHAWLA, R. K.; LEWIS, F. W.; KUTNER, M. H.; BATE, D. M.; ROY, R. G. B.; RUDMAN, D. Plasma cysteine, and glutathione in cirrhosis. **Gastroenterology**, v. 87, p.770-776, 1984.

CHENG, T. Y.; ZHU, Z.; MASUDA, S.; MORCOS, N.C. Effects of multinutrient supplementation on antioxidant defense systems in healthy human beings. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 12, p.388-395, 2001.

CHEVION, S.; ROBERTS, M. A.; CHEVION, M. The use of cyclic voltametry for the evaluation of antioxidant capacity. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 28, n.6, p. 860-70, 2000.

CHOW, C. K. Vitamin E and oxidative stress. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 11, p. 215-232, 1991.

CHRISTEN, W. G.; GAZIANO, M.J.; HENNEKENS, C. H. Design of physicians' health study II – A randomized trial of beta-carotene, vitamins E and C, and multivitamins, in prevention of cancer, cardiovascular disease, and eye disease, and review of results of completed trials. **Annals of Epidemiology**, v. 10, p. 125-134, 2000.

COHUET, G.; STRUIJKER-BOUDIER, H. Mechanisms of target organ damage caused by hypertension: therapeutic potential. **Pharmacology & Therapeutics**, v. 111, p. 81-98, 2006.

CONSOLIM-COLOMBO, F. M.; FIORINO, P. Sistema nervoso simpatico e hipertensão arterial sistêmica- aspectos clínicos. **Revista Brasileira de Hipertensão**, v. 12, p.251-255, 2005.

COOK, N. C.; SAUMMAN, J. Flavonoids – chemistry, metabolism, cardioprotective effects, and dietary sources. **Nutrition Biochemistry**, v. 7, p. 66-76, 1996.

COTTONE, S.; MULÈ, G.; NARDI, E.; VADALÀ, A.; GUARNERI, M.; BRILOTTA, C.; ARSENA, R.; PALERMO, A.; RICCOBENE, R.; CERASOLA, G. Relation of C-reactive protein to oxidative stress and to endothelial activation in essential hypertension. **American Journal of Hypertension**, v. 19, p. 313-318, 2006.

CRACOWSKI, J-L.; BAGUET, J-P.; ORMEZZANO, O.; BESSARD, J.; STANKE-LABESQUE, F.; BESSARD, G.; MALLION, J-M. Lipid peroxidation is not increased in patients with untreated mild-to-moderate hypertension. **Hypertension**, v. 41, p. 286-288, 2003.

CRISPIM, S. P.; FRANCESCHINI, S. C. C.; PRIORE SE, FISBERG RM. Validação de inquéritos dietéticos: uma revisão. **Nutrire: Revista da Sociedade Brasileira de Alimentação e Nutrição**, v. 26, p.127-141, 2003.

CROFT, K. D. The chemistry and biological effects of flavonoids and phenolic acids. **Annal New York Academy Science** , v. 854, p. 435-442, 1998.

CUNHA, D.F.; CUNHA, S. F. C. Microminerais. In: OLIVEIRA D. O.; MARCHINNI, J. S. **Ciências Nutricionais**. São Paulo, Sarvier, 1998. p.141-165, 403p.

CZERNICHOW, S.; HERCBERG, S. Interventional studies concerning the role of antioxidant vitamins in cardiovascular diseases: a review. **The Journal of Nutrition, Health & Aging**, v. 5, n.3, p. 188-195, 2001.

CZUCZEIKO, J.; ZACHARA, B. A.; STAUBACH-TOPCZEWSKA, E.; HALOTA, W.; KEDZIORA, J. Selenium glutathione and glutathione peroxidases en blood of patients with chronic liver diseases. **Acta Biochimica Polonica**, v. 50, n.4, p. 1147-1154, 2003.

DAKSHINAMURTI, K.; DAKSHINAMURTI, S. Blood pressure regulation and micronutrient. **Nutrition Research Reviews**, v. 14, p. 3-43, 2001.

DANIELS, L. A. Selenium does selenium status have health outcomes beyond overt deficiency? **Medical Journal Australian**, v. 180, n. 8, p. 373-374, 2004.

DAVIES, K. J. A. An overview of oxidative stress. **International Union of Biochemistry and Molecular Biology Life (IUBMB Life)**, v. 50, p. 241-244, 2000.

DELBOSC, S.; PAIZANIS, E.; MAGOUS, R.; ARAIZ, C.; DIMO, T.; CRISTOL, J-P.; CROS, G.; AZAY, J. Involvement of oxidative stress and NADPH oxidase activation in the development of cardiovascular complications in a modelo f insulin resistance, the fructose-fed rat. **Atherosclerosis**, v. 179, p. 43-49, 2005.

DIAZ-VÉLEZ, C. R.; GARCIA-CASTIÑEIRAS, S.; MENDOZA-RAMOS, E.; HERNÁNDEZ-LÓPEZ, E. Increased malondialdehyde in peripheral blood of patients with congestive heart failure. **American Heart Journal**, v. 131, p. 146-152, 1996.

IV DIRETRIZES BRASILEIRAS DE HIPERTENSÃO ARTERIAL (IV DBHA). **Revista Brasileira de Hipertensão**, v. 9, n. 4, p. 359-408, 2002.

V DIRETRIZES BRASILEIRAS DE HIPERTENSÃO ARTERIAL (V DBHA). **Revista Brasileira de Hipertensão**, v. 13, n. 4, p. 12-157, 2006.

I DIRETRIZES BRASILEIRAS DE SÍNDROME METABÓLICA. **Revista da Sociedade Brasileira de Hipertensão**, v. 7, n. 4, p. 123-159, 2004.

III DIRETRIZES BRASILEIRAS SOBRE DISLIPIDEMIAS e diretriz de prevenção da aterosclerose do departamento de aterosclerose da sociedade brasileira de cardiologia. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v.77, s. III, p.1-49, 2001.

DOEHNER, W.; SCHOENE, N.; RAUCHHAUS, M.; LEYVA—LEON, F.; PAVITT, D. V.; REAVELEY, D. A.; SCHULER, G.; COATS, A. J.; ANKER, S. D.; HAMBRECHT, R. Effects of xanthine oxidase inhibition with allopurinol on endothelial function and peripheral blood flow in hipertruricemic patients with chronic heart failure:results from 2 placebo-controlled studies. **Circulation**, v.105, p.2619-2624, 2002.

DÓREA, E. L.; LOTUFO, P. A. Hipertensão arterial sistêmica. Diagnóstico, evolução e tratamento. **Revista Brasileira de Clínica & Terapêutica**, v.27, n.6, p.228-234, 2001.

DÜNDAR, Y.; ASLAN, R. Antioxidative stress. **Eastern Journal of Medicine**, v. 5, n.2, p. 45-47, 2000.

DURAK, I.; AYTAÇ, B.; ATMACA, Y.; DEVRIM, E.; AVCI, A.; EROL, Ç.; ORAL, D. Effects of garlic extract consumption on plasma and erythrocyte antioxidant parameters in atherosclerotic patients. **Life Sciences**, v.75, p.1959-1966, 2004.

DUTHIE, G. G. ; WAHLE, K. W. J.; JAMES, W. P. T. Oxidants, antioxidants and cardiovascular disease. **Nutrition Research Reviews**, v. 2 , n. 51-62, 1989.

DUTHIE, G. G. ; DUTHIE, S. J. ; KYLE, J. A. M. Plant polyphenols in cancer and heart disease : implications as nutritional antioxidants. **Nutrition Research Reviews**, v.13, p. 79-106, 2000.

ECK, H-P. ; GMUNDER, H. ; HARTMAN, M. ; PETZOLDT, D. ; DANIEL, V. ; DROGE, W. Low concentration of acid-soluble thiol (cysteine) in the blood plasma of HIV-1 infected patients. **Biological Chemistry Hoppe-Seyler**, v. 370, p.101-108, 1989.

EDGE, R.; MCGARVEY, D. J.; TRUSCOTT, T. G. J. The carotenoids as anti-oxidants – a review. **Photochemistry Photobiology B**, v. 41, p.189-200, 1997.

EL-AGAMEY, A.; LOWE, G. M.; MCGARVEY, D. J.; MORTENSEN, A.; PHILLIP, D. M.; TRUSCOTT, T. G.; YOUNG, A. J. Cartenoid radical chemistry and antioxidant/pro-oxidant properties. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 430, p.37-48, 2004.

ENGSTRÖM, G.; HEDBLAD, B.; STAVENOW, L.; JONSSON, S.; LIND, P.; JANZON, L.; LINDGÄRDE, F. Incidence of obesity-associated cardiovascular disease is related to inflammation-sensitive plasma proteins. A population-based cohort study. **Arteriosclerosis Thrombosis Vascular Biology**, v. 24, p. 1498-1502, 2004.

ESTERBAUER, H.; CHEESEMAN, K. H. Determination of aldehydic lipid peroxidation products: malonaldehyde and 4-hydroxynonenal. **Methods in Enzymology**, v. 186, p. 407-431, 1998.

EVANS, P.; HALLIWELL, B. Micronutrients: oxidant/antioxidant status. **American Journal of Nutrition**, v.85, n. 2, p. 67S-74S, 2001.

Executive Summary of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adults Treatment Panel III). **The Journal of the American Medical Association**, v. 285, p. 2486-2497, 2001

FAIRBANKS, V. F. O ferro em medicina e nutrição. In: SHILS, M. E.; OLSON, J. A.; SHIKE, M.; ROSS, A. C. **Tratado de Nutrição Moderna na Saúde e na Doença**. São Paulo, Manole, 2002, v. I, 1026p., p.207- 237.

FERREIRA, A. L. A.; MATSUBARA, L. S. Radicais livres: conceito, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 43, n. 1, p. 61- 68, 1997.

FERREIRA, K. S.; GOMES, J. C.; BELLATO, C. R.; JORDÃO, C. P.; Concentrações de selênio em alimentos consumidos no Brasil. **Revista Panamericana del Salud Publica/ Pan American Journal of Public Health**, v. 11, n. 13, p.172-177, 2002.

FERREIRA, P. V. **Estatística experimental aplicada à agronomia**. 3 ed. Maceió, EDUFAL, 2000. 405p.

FERRONI, P.; BASILI, S.; PAOLETTI, V.; DAVI, G. Endothelial dysfunction and oxidative stress in arterial hypertension. **Nutrition Metabolism & Cardiovascular Disease**, v. 16, p. 222-233, 2006.

FINKEL, T.; HOLBROOK, N.J. Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing. **Nature**, v. 408, n.9, p.239-246, 2000.

FISBERG, R. M.; SLATER, B.; MARCHIONE, D. M. L.; MARTINI, L. A. **Inquéritos Alimentares. Métodos e bases científicos**. São Paulo, Manole. 2005. 334p.

FLORIS, G.; MEDDA, R.; PADIGLIA, A.; MUSCI, G. The physiopatological significance of ceruloplasmin. **Biochemical Pharmacology**, v. 60, p. 1735-1741, 2000.

FORD, E. S. Trends in waist circumference among US adults. **Obesity Research**, v. 11, p. 1223-1231, 2003.

FOX, P. L.; MUKHOPADHAYAY, C.; EHRENWALD, E. Structure, oxidant activity, and cardiovascular mechanisms of human ceruloplasmin. **Life Sciences**, v. 56, n. 21, p. 1749-1758, 1995.

FOX, P. L.; MAZUMDER, B.; EHRENWALD, E. Ceruloplasmin and cardiovascular disease. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 28, n. 12, p. 1735-1744, 2000.

FREI, B. Cardiovascular disease and nutrient antioxidants: role of low-density lipoprotein oxidation. **Critical Review in Food Science and Nutrition**, v. 35 n. 1&2, p. 83-98, 1995.

FUHRMAN, B.; AVIRAM, M. Flavonoids protect LDL from oxidation and attenuate atherosclerosis. **Current Opinion in Lipidology**, v.12, p. 41-48, 2001.

FUHRMAN, M. P. Antioxidant supplementation in critical illness: what do we know? **Nutrition**, v. 16, p. 470-471, 2000.

GAETA, L. M.; TOZZI, G.; PASTORE, A.; FEDERICI, G.; BERTINI, E.; PIEMONTE, F.; Determination of superoxide dismutase and glutathione peroxidase activities in blood of healthy pediatric subjects. **Clinica Chimica Acta**, v. 322, p.117-120, 2002.

GALATI, G.; O'BRIEN, P. J. Potential toxicity of flavonoids and other dietary phenolics: significance for their chemopreventive and anticancer properties. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 37, n. 3, p. 287-303, 2004.

GAMBHIR, J. K.; LALI, P.; JAIN, A. K. Correlation between blood antioxidant levels and lipid peroxidation in rheumatoid arthritis. **Clinical Biochemistry**, v. 30, n. 4, p. 351-355, 1997.

GANDRA, P. G.; ALVES, A. A.; MACEDO, D. V.; KUBOTA, L. T. Determinação eletroquímica da capacidade antioxidante para avaliação do exercício físico. **Quimica Nova**, v. 17, p. 980-985, 2004.

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

GHIADONI, L.; MAGAGA, A.; VERSARI, D.; KARDASZ, I.; HUANG, Y.; TADDEI, S.; SALVETTI, A. Different effect of antihypertensive drugs on conduit artery endothelial function. **Hypertension**, v. 41, p. 1281-1286, 2003.

GHISELLI, A.; SERAFINI, M.; MAIANI, G.; AZZINI, E.; FERRO-LUZZI, A. A fluorescence-based method for measuring total plasma antioxidant capability. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 18, n.1, p.29-36, 1995.

GHISELLI, A.; SERAFINI, M.; NATELLA, F.; SCACCINI, C. Total antioxidant capacity as a tool to assess redox status: critical view and experimental data. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 29, n.11, p.1106-1114, 2000.

GIAMMARIOLI, S.; FILESI, C.; SANZINI, E. Oxidative stress marker: specificity and measurement techniques **Annal Istituto Superiori di Sanità**, v. 35, n. 4, p. 563-576, 1999.

GOLDSTEIN, L. M.; KAPLAN, H. B.; EDELSON, H. S.; WEISSMANN, G. Ceruloplasmin. A scavenger of superoxide anion radicals. **Journal of Biological Chemistry**, v. 254, 4040-4045, 1979.

GOTTO, A. M. Antioxidants, statins and atherosclerosis. **Journal of the American College of Cardiology**, v. 41, n. 7, p. 1205-1210, 2003.

GOULART, A. C.; BENSEÑOR, I. J. M. Obesidade e hipertensão. **Hipertensão**, v. 9, n. 1, p.27-30, 2006.

GUEMOURI, L.; YVES, A.; HERBERH, B.; JEANDEL, C.; CUNY, G.; SIEST, G. Biological variability of superoxide dismutase, glutathione peroxidase, and catalase in blood. **Clinical Chemistry**, v. 37, n.11, p. 1932-1937, 1991.

GUERRA, E. J. I. Estrés oxidativo, enfermedades y tratamientos antioxidantes. **Anales de Medicina Interna**, v. 18, n.6, p. 326-335, 2001.

GUTTERIDGE, J M. C. Biological origin of free radicals and mechanisms of antioxidant protection. **Chemico-Biological Interactions**, v. 91, p. 133-140, 1994.

GUTTERIDGE, J.M.C. Invited review. Free radicals in disease processes: a compilation of cause and consequence. **Free Radical Research Comments**, v.19, p.141-158, 1993.

GUTTERIDGE, J.M.C.; RICHMOND, R.; HALLIWELL, B. Oxygen free radicals and peroxidation: inhibition by protein caeruloplasmin, **FEBS Letters**, v. 112, n. 2, p. 269-272, 1980.

GRIENGLING, K. K.; FITZGERALD, G. A. Oxidative stress and cardiovascular injury. Part I: basic mechanisms and *in vivo* monitoring of ROS. **Circulation**, v. 108, p.1912-1916, 2003(a).

GRIENGLING, K. K.; FITZGERALD, G. A. Oxidative stress and cardiovascular injury. Part II: animal and humans studies. **Circulation**, v.108, p. 2034-2040, 2003(b).

GRIENGLING, K. K.; SORESCU, D.; USHIO-FUKAI, M. NAD(P)H Oxidase. Role and cardiovascular biology and disease. **Circulation Research**, v. 86, p. 494-501, 2000.

GRIENGLING, K. K.; USHIO-FUKAI, M. NADH/NADPH oxidase and vascular function. **Trends Cardiovascular Medical**, v.7, p.301-307, 1997.

GROSS, M.; STEFFES, M.; JACOBS JÚNIOR, D. R.; YU, X.; LEWIS, L.; LEWIS, C. E.; LORIA, M. C. Plasma F₂-Isoprostanes and coronary artery calcification: the CARDIA study. **Clinical Chemistry**, v. 51, n. 1, p. 125-131, 2005.

HAFFNER, S M. Clinical relevance of the oxidative stress concept. **Metabolism**, v. 9, s. 1, p. 30-34, 2000.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. C The antioxidant of human extracellular fluids. **Archives Biochemistry and Biophysics**, v. 28, p. 1-8, 1990.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. C. **Free Radical in Biology and Medicine**. 3 ed. Oxford., Oxford University Press, 2002. 936p.

HALLIWELL, B.; MURCIA, M. A.; CHIRICO, S.; ARUOMA, O.I. Free Radicals and antioxidants in food and *in vivo*: What they do and how they work. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v.35, n. 1/2, p.7-20, 1995.

HALLIWELL, B. Reactive oxygen species in living systems: souce, biochemistry, and role in human disease. **American Journal of Medicine**, v. 91. s.3, p.14S-22S, 1991.

HALLIWELL, B. Free radicals and antioxidants: a personal view. **Nutrition Review**, v. 52, n.8, p. 253-65, 1994.

HALLIWELL ,B. The antioxidant paradox. **The Lancet**, v. 335, p. 1179-1180, 2000.

HENSLEY, K.; WILLIAMSON, K. S.; FLOYD, R. A. Measurement of 3-nitrotyrosine and 5-nitro- γ -tocopherol by high-performance liquid chromatography with electrochemical detection. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 28, n. 4, p. 520-528, 2000.

HIGASHI, Y.; SASAKI, S.; NAKAGAWA, K.; MATSUURA, H.; OSHIMA, T.; CHAYAMA, K. Endothelial function and oxidative stress in renovascular hypertension. What is the clinical significance? **New England Journal of Medicine**, v. 346, p.1954-1962, 2002.

HILL, B. Accu-Check[®] Advantage: aletrochemistry for diabetes management **Current Separations**, v.21, p. 45-48, 2005.

HODIS, H. N.; HASHIMOTO, S.; MACK, W. J.; SEVANIAN, A. Probuocol redices oxyesterol formation in hypertensive rabbits. **Hypertension**, v. 36, p. 436-441, 2000.

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

HOLLEY, A. E.; WALKER, M. K. Measurement of n-alkanals and hydroxyalkenals in biological samples. **Free Radical Biology & Medicine**, v.15, n. 3, p. 281- 289, 1993.

HOUSTON, M. C. Nutraceuticals, vitamins, antioxidants, and minerals in the prevention and treatment of hypertension. **Progress in Cardiovascular Diseases**, v. 47, n. 6, p. 396-449, 2005.

HUANG, D.; OU, B.; PRIOR, R. L. The chemistry behind antioxidant capacity assays. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, p. 1841-1856, 2005.

IDE, T.; TSUTSUI, H.; OHASHI, N.; HAYASHIDANI, S.; SUEMATSU, N.; TSUCHIHASHI, M.; TAMAI, H.; TAKESITA A. Greater Oxidative stress in healthy young men compared with premenopausal women. **Arteriosclerosis and Thrombosis Vascular Biology**, v. 156, p.274-285, 2002.

[http:// www.medicine.uiowa.edu/frfb/virtualschool/virtual.html](http://www.medicine.uiowa.edu/frfb/virtualschool/virtual.html)

IKEDIABI, C.; BADISA, V. L.; AYUK-TAKEM, L. T.; LATINWO, L. M.; WEST, J. Response of antioxidant enzymes and redox metabolites to cadmium-induced oxidative stress in CRL-1439 normal rat liver cells. **International Journal of Molecular Medicine**, v. 14, n.87-92, 2004.

INSTITUTE OF MEDICINE/ FOOD AND NUTRITION BOARD. **Dietary Reference Intakes for vitamin A, vitamin K, arsenic, baron, chromium, cooper, iodine, iron, manganese, molybdenum, nickel, silicon, vanadium, and zinc**. Washington, National Academy Press, 2000. 800p.

INSTITUTE OF MEDICINE / FOOD AND NUTRITION BOARD. **Dietary Reference Intakes for vitamin C, vitamin E, selenium, and carotenoids**. Washington, National Academy Press, 2000. 529p.

INSTITUTE OF MEDICINE/ FOOD AND NUTRITION BOARD . **Dietary Reference Intakes for energy, carbohydrate, fiber, fat, fatty acids, cholesterol, protein, and amino acids**. Washington, National Academy Press, 2002. 543p.

INSTITUTE OF MEDICINE/ FOOD AND NUTRITION BOARD. **Dietary Reference Intakes for water, potassium, sodium, chloride, and sulfate**. Washington, National Academy Press, 2004. 450p.

IRANI, K. Oxidant signaling in vascular cell growth, death, and survival. A review of the roles of reactive oxygen species in smooth muscle and endothelial cell mitogenic and apoptotic signaling. **Circulation Research**, v. 87, p. 179-183, 2000.

IRIGOYEN, M. C.; FIORINO, P.; DE ANGELIS, K.; KRIEGER, E. M. Sistema nervoso simpatico e hipertensão arterial: reflexos cardiocirculatórios. **Revista Brasileira de Hipertensão**, v. 12, p.229-233, 2005.

JACOB, R. A. The integrated antioxidant system. **Nutrition Research**, v.15, p.755-766, 1995.

JACOB, R. A.; BURRI, B. Oxidative damage and defense. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 63, p.985S-990S, 1996.

JACOBS, J. M.; ADKINS, J. N.; QIAN, W-J.; LIU, T.; SHEN, Y.; CAMPII, D. G.; SMITH, R. D. Utilizing human blood plasma for proteomic biomarker discovery. **Journal of Proteome Research**, v. 4, p. 1073-1085, 2005.

JANASZEWSKA, A.; BARTOSZ, G. Assay of total antioxidant capacity: comparison of four methods as applied to human blood plasma. **Scandinavian Journal Clinical Laboratorial Investigations**, v. 62, p. 231-236, 2002.

JAYAKUMARI, N.; AMBIKAKUMARI, V.; BALAKRISHNAN, K. G.; IYER, S. K. Antioxidant status in relation to free radical production during stable and unstable anginal syndromes. **Atherosclerosis**, v.94, n.2/3, p. 183-190, 1992.

JONHSON, R. A.; BAKER, S. S.; FALLON, J. T.; MAYNARD, E. P.; RUSKIN, J. N.; WEN, Z.; GE, K.; COHEN, H. J. An occidental case of cardiomyopathy and selenium deficiency. **New England Journal of Medicine**, v. 304, n.20, p.1210-1212, 1981.

JONHSON, R. J.; KANG, D-H.; FEIG D.; KIVLIGHN, S.; KANELIS J.; WATANABE, S.; TUTTLE, K. R.; RODRIGUEZ-ITURBE B.; HERRERA-ACOSTA, J.; MAZZALI M. Is there a pathogenetic role for uric acid in hypertension and cardiovascular and renal disease? . **Hypertension**, v. 41, p. 1183-1190, 2003.

JONHSON, R. J.; RODRIGUEZ-ITURBE, B.; KANG, D-H.; FEIG, D. I.; HERRERA-ACOSTA, J. A unifying pathway for essential hypertension. **American journal of Hypertension**, v.18, p.431-440, 2005.

JORDÃO JUNIOR, A. A; CHIARELLO, P. G; BERNARDES M. S. M.; VANNUCCHI, H. Peroxidação lipídica e etanol: papel da glutatona reduzida e da vitamina E. **Medicina, Ribeirão Preto**, v.31, p.434-449, 1998.

JOSHIPURA, K. J.; HU, F. B.; MANSON, J. E.; STAMPFER, M. J.; RIMM, E. B.; SPETZER, F. E.; COLDTZ, G.; ASCHERIO, A.; ROSNER, B.; SPLEGELMAN, D.; WILLET, W. C. **Annals of Internal Medicine**, 134, 1106-1114, 2001.

KABAGAMAGE, E. K.; BAYLIN, A.; ALLAN, D. A.; SILES, X.; SPIEGELMAN, D.; CAMPOS, H. Application of the method of triads to evaluate the performance of food frequency questionnaires and biomarkers as indicators of long-term dietary intake. **American Journal of Epidemiology**, v. 154, n. 4, p.1126-1135, 2001.

KADIISKA, M. B.; GLADEN, B. C.; BAIRD, D. D.; GERMOLEC, D.; DIKALOVA, A. E.; SOHAL, R. S.; HATCH, G. E.; JONES, P. D.; MASON, R. P.; BARRET, C. J. Biomarkers of oxidative stress study : Are plasma antioxidants markers of CCl₄ poisoning? **Free Radical Biology & Medicine**, v. 28, n. 6, p. 838-845, 2000.

KADIISKA, M. B.; GLADEN, B. C.; BAIRD, D. D.; GERMOLEC, D.; GRAHAM, L. B.; PARKER, C. E.; NYSKA, A.; WACHSMAN, J. T.; AMES, B. N.; BASU, S.; BROT, N.; FITZGERALD, G. A.; FLOYD, R. A.; GEORGE, M.; HEINECKE, J. W.; HATCH, G. E.; HENSLEY, K.; LAWSON, J. A.; MARNETT, L. J.; MORROW, J. D.; MURRAY, D. M.; PLASTARAS, J.; ROBERTS II, L. J.; ROKACH, J.; SHIGENAGA, M. K.; SOHAL, R. S.; SUN, J.; TICE, R. R.; VAN THIEL, D. H.; WELLNER, D.; WALTER, P. B.; TOMER, K. B.; MASON, R. P.; BARRETT, J. C. Biomarkers of oxidative stress study II. Are oxidation products of lipids, proteins, and DNA markers of CCl₄ poisoning? **Free Radical Biology & Medicine**, v. 38, p. 698- 710, 2005 (a).

KADIISKA, M. B.; GLADEN, B. C.; BAIRD, D. D.; GRAHAM, L. B.; PARKER, C. E.; AMES, B. N.; BASU, S.; FITZGERARD, G. A.; LAWSON, J. A.; MARNETT, L. J.; MORROW, J. D.; MURRAY, D. M.; PLASTARAS, J.; ROBERTS II, L. J.; SHIGENAGA, M. K.; SUN, J.; WALTER, P. B.; TOMER, K. B.; BARRRETT, J. C.; MASON, R. P. Biomarkers of oxidative stress study II. Effects of the nonsteroidal anti-inflammatory agenbts indomethacin and meclofenamic acido n measurements of oxidative products of lipids in CCl₄ poisoning. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 38, p. 711- 718, 2005 (b).

KALINOWSKI, L.; DOBRUCKI, L. W.; SZCZEPANSKA-KONKEL, M.; JANKOWSKI, M.; MARTYNIEC, L.; ANGIELSKI, S.; MALINSKI, T. Third-generation beta-blokers stimulate nitric oxide release from endothelial cells through ATP efflux: a novel mechanism for antihypertensive action. **Circulation**, v. 107, p.2747-52, 2003.

KATEPE, M. Simultaneous determination of ascorbic acid and free malodialdehyde in human serum by HPLC-UV, **LCGC North American**, v. 22, n.4, p.362-365, 2004.

KAUL, N.; SILVESKI-ILISKOVIC, N.; HILL, M.; SLEZAK, J.; SINGAL, P K. Free radicals and the heart. **Journal of Pharmacology and Toxicology Methods** , v. 30, n.2; p. 55-67, 1993.

KEDZIORA-KORNATOWSKA, K.; CZUCZEJKO, J.; PAWLUK, H.; KORNATOWSKI, T.; MOTYL, J.; SZADUJKIS-SZADURSKI, L.; SZEWCZYK-GOLEC, K.; KEDZIORA, J. The markers of oxidative stress and activity of the antioxidant system in the blood of ederly patients with essential arterial hypertension. **Cellular & Molecular Biology Letters**, v.9, p.635-641, 2004.

KEHER, J. P. Free radicals as mediator of tissue injury and disease. **Critical Review inToxicology**, v. 23, n. 1, p.21-48, 1993.

KHULLAR, J.; RELAN, V.; SHERAWAT, B. S. Antioxidant activites and oxidative stress byproducts in human hypertension. **Hypertension**, v.43, n. 2, p.7, 2004

KISHI, T.; HIROOKA, Y.; ITO, K.; SHIMOKAWA, H.; TAKESHITA, A. increased reactive oxygen species in rostral ventrolateral medulla contributr to neuronal mechanisms of hypertension in stroke-prone spontaneously hypertensive rats. **Circulation**, v. 109, p. 2357-2362, 2004.

KLOTZ, L-O.; SIES, H. **Novel aspects of selenium: glutathione peroxidases protect against peroxynitrite.** Research Monographs, Institut Physiological Chemie I. p.1-3, 2002.

KOHEN, R.; VELLAICHAMY, E.; HRBAC, J.; GATI, I.; TIROSH, O. Quantification of the overall reactive oxygen species scavenging capacity of biological fluids and tissues. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 28, n.6, p. 871-879, 2000.

KOK, F. J.; VAN DUIJN, C. M.; HOFMAN, A.; VAN DER VOET, G. B.; WOLF, F. A.; PAAYS, C. H. C.; VALKENBURG, H. A. Serum copper and zinc and the risk of death from cancer and cardiovascular disease. **American Journal of Epidemiology**, v.128, n. 2, p. 352-359, 1988.

KRIS-ETHERTON, P.; ECKEL, R. H.; HOWARD, B. V.; JEOR, S. S.; BAZZARRE, T. L. Lyon diet heart study. **Circulation**, v.103, n.13, 1823, 2001.

KRIS-ETHERON, P. M.; HECKER, K. D.; BONANOME, A.; COVAL, S. M.; BINKOSKI, A. E.; HILPERT, K. F.; GRIEL, A. E.; ETHERTON, T. D. Bioactive compounds in foods: their role in the prevention of cardiovascular disease and cancer. **American Journal of Medicine**, v.113 , s.9B, p.71S-88S, 2002.

KRSEK-STAPLES, J. A.; WEBSTER, R. O. Ceruloplasmin inhibits carbonyl formation in endogenous cell proteins. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 14, p. 115-125, 1993.

LABAER, J. So, you want to look for biomarkers (introduction to the special biomarkers issue **Journal of Proteome Research.**, v. 4, n. 4, p. 1053-1059, 2005.

LASSÉGUE, B.; GRIENDLING, K. Reactive oxygen species in hypertension. **American Journal of hypertension**, v. 17, p. 852-860, 2004

LAURINDO, F. R. M.; SOUZA, H. P.; LUZ, P. L. Estresse oxidativo: um denominador comum de condições vasculares patológicas. **Revista da Sociedade de Cardiologia do Estado de São Paulo (SOCESP)**, v. 8, n. 2, p. 344-355, 1998.

LAWRENCE, N. S.; BECKETT, E. L.; DAVIS, J.; COMPTON, R. G. Advances in the voltametric analysis of small biologically relevant compounds. **Analytical Biochemistry**, v. 303, p.1-16, 2002.

LEE, V. M.; QUINN, P. A.; JENNINGS, S. C.; NG, L. L. Neutrophil activation and production of reactive oxygen species in pre-eclampsia. **Journal of Hypertension** v. 21, p.395-402, 2003.

LESSA, I. Epidemiologia da hipertensão arterial sistêmica e da insuficiência cardíaca no Brasil. **Revista Brasileira de Hipertensão**, v.8, n.4, p.383-392, 2001.

LEVINE, R. L.; GARLAND, D.; OLIVER, C.N.; AMICI, A.; CLIMENT, I.; LENZ, A. G.; ALM, B.; SHALTIEL, S.; STADMAN, E. R. Determination of carbonyl content in oxidatively modified proteins **Methods in Enzymology**, v. 186, p. 464-478, 1990.

LEVINE, R. L. Carbonyl modified proteins in cellular regulation, aging and disease. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 32, n.9, p. 790-796, 2002.

LIMA, E. S.; CARATIN, R. F.; SOLIS, V. S. R. Peroxidação dos ácidos graxos. In: CURI, R.; POMPÉIA, C.; MIYASATA, C. K.; PROCÓPIO, J. **Entendendo a gordura e os ácidos graxos**. São Paulo, Manole, 2002. 580 p, p. 407-418.

LIP, G.Y.; EDMUNDS, E.; NUTTALL, S. L.; LANDRAY, M. J.; BLANN, A. D.; BEEVERS, D. G. Oxidative in malignant e non-malignant phase hypertension. **Journal of Human Hypertension**, v. 16, p. 333-336, 2002.

LIU, H.; COLAVITTI, R.; ROVIRA, I. I.; FINKEL, T. Redox-dependent transcriptional regulation. **Circulation Research**, v. 97, p. 967-974, 2005.

LOPES, H. F. N. C.; MARTIN, K. L.; NASHAR, K.; MORROW, J. D.; GOODFRIEND, T. L.; EGAN, B.M. DASH diet lowers pressure and lipid-induced oxidative stress in obesity. **Hypertension**, v. 41, p. 422-430, 2003.

LOVSTAD, R. A. The protective action of ceruloplasminon copper ion stimulated lysis of rat erythrocytes. **Internal Journal of Biochemistry**, v. 14, n. 585-589, 1982.

MANTLE, D.; PREEDY, V. R. Free radicals as mediators of alcohol toxicity. **Adverse Drug Reactions Toxicology**, v. 18, p. 235-252, 1999.

MALINSKI, T. Understanding nitric oxide physiology in the heart: a nanomedical approach. **American Journal of Cardiology**, v. 96, p. 13i-24i, 2005.

MÄNTTÄRI, M.; MANNINEN, J. K.; HUTTUNEN, T.; PALOSUO, T.; EHNHOLM, C.; HEINONEN, O. P.; FRICK, M. H. Serum ferritin and ceruloplasmin as coronary risk factors. **European Heart Journal**, v. 15, p. 1599-1603, 1994.

MARCH, J.; SMITH, B. M. Carbocations, carbanions, free radicals, carbenes, and nitrenes. In: **Advanced Organic Chemistry. Reactions, mechanisms and structure**. 5 ed. New York, Wiley Interscience, 2001, p. 2198-273, 2083 p.

MARDONES, P.; RIGOTTI, A. Cellular mechanisms of vitamin E uptake: relevance in α -tocopherol metabolism and potential implications for disease. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v.15, p. 252-260, 2004.

MARIANI, E.; POLIDORI, M. C.; CHERUBINI, A.; MECOCCHI, P. Oxidative stress in brain aging, neurodegenerative and vascular diseases: an overview. **Journal of Chromatography B**, v. 857, p.65-75, 2005.

MARSHALL, M. D.; WATTAM, S.; SKINNER, N. D.; CHARLTON, C. J.; HARPER, J. E. Feline antioxidant enzyme activity: the effect of sample storage on stabilityj. **Journal of Nutrition**, v.132, p. 1733S-1734S, 2002.

MASSION, P. B.; FERON, O.; DESSY, C.; BALLIGAND, J-L. Nitric oxide and cardiac function. **Circulation Research**, v. 93, p.388-398, 2003.

MCCALL, M. R.; FREI, B. Can antioxidant vitamins materially reduce oxidative damage in humans? **Free Radical Biology & Medicine**, v. 26 n.7/8, p.1034-1053, 1999.

MCCORD, J.; FRIDOVICH, I. Superoxide dismutase an enzymatic function for erythrocyte (hemocuprein). **The Journal of Biological Chemistry**, v. 244, p. 6049-6055, 1969.

MCDONOUGH, K. H. Antioxidant nutrients and alcohol. **Toxicology**, v. 189, p. 89-97, 2003.

MCINTYRE, M.; BOHR, D. F.; DOMINICZAK, A. F. Endothelial function in hypertension. The role of superoxide anion. **Hypertension**, v.34, p. 539-545, 1999.

MEAGHER, E.; RADER, D. Antioxidant therapy and atherosclerosis: animal and human studies. **Trends Cardiovascular Medical**, v. 11, n.162-165, 2001.

MENDEZ, M. H. M.; DERIVI, S. C. N.; RODRIGUES, M. C. R.; FERNANDES, M. L. **Tabela de Composição de Alimentos**. Niterói, EDUFF, 1995. 41p.

MENDONÇA, A. J. G., org. **Manual do metabolismo oxidativo**. Portugal, ESA Inc, 1995. 36p.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Guia alimentar para a população brasileira: Promovendo a alimentação saudável**. Secretaria de Atenção Básica à Saúde, Coordenação Geral da Política de Alimentação e Nutrição. Brasília, 2005, 236 p.

MINUZ, P.; PATRIGNANI, P.; GAINO, S.; DEGAN, M.; MENAPACE, L.; TOMMASOLI, R.; SETA, ; CAPONE, M. L.; TACCONELLI, S.; PALATRESI, S.; BENCINI, C.; TASO, C. L.; LECH, A.; MORGANTI, A.; PATRONO, C. Increased oxidative stress and platelet activation in patients with hypertension and renovascular disease **Circulation** , v. 106, p.2800-2805, 2002,.

MILLS, G. C. Hemoglobin catabolism I. Glutathione peroxidase, and erythrocyte enzyme which protects hemoglobin from oxidative breakdown. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 229, n. 1, p. 189-197, 1957.

MILLS, G. C.; RANDHAL, H. P.; Hemoglobin catabolism II. The protection of hemoglobin from oxidative breakdown in the intact erythrocyte. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 232, n. 2 p.589-598, 1958.

MIQUEL, J.; RAMÍRZ-BOSCÁ, A.; RAMÍRZ-BOSCÁ, J. V.; ALPERI, J. D. Menopause: a review on the role of oxygen stress and favorable effects of dietary antioxidants. **Archives of Gerontology and Geriatrics**, v. 43, n. 3, p. 289-306, 2005.

MISHA, H. P.; FRIDOVICH, I. The role of superoxide anion in the autoxidation of epinephrine and a simple assay for superoxide dismutase **The Journal of Biological Chemistry**, v. 247, p. 3170-3175, 1972.

MISHA, V.; BAINES, M.; WENSTONE, R.; SHENKIN, A. Markers of oxidative damage, antioxidant status and clinical outcome in critically ill patients. **Annals of Clinical Biochemistry**, v. 42, p.269-276, 2005.

MONDINI, L.; MONTEIRO, C. A. Mudanças no padrão de alimentação da população brasileira (1962-1988). **Revista de Saúde Pública**, v. 28, n. 6, p. 433-439, 1994.

MUKHOPADHYAY, C. K.; MAZUMDER, B.; LINDLEY, P. F.; FOX, P. L. Identification of the prooxidant site of human ceruloplasmin: a model for oxidative damage by copper bound to protein surfaces. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA**, v. 94, p. 11546-11551, 1997.

NAKANO, H.; OGITA, K.; GUTTERIDGE, J. M.; NAKANO, M. Inhibition by protein ceruloplasmin of peroxidation stimulated by an Fe^{3+} -ADP-adriamycin complex. **Journal of Federation of European Biochemical Societes (FEBS Letters)** , v.166, n.2, p. 232-236, 1984.

NAPOLI, C.; NIGRIS, F.; PALINSKI, W. Multiple role of reactive oxygen species in the arterial wall. **Journal of Cellular Biochemistry**, v. 82, p. 674-682, 2001.

NAVARRO, J.; OBRADOR, E.; CARRETERO, J.; PETSCHEN, I.; AVIÑO, J.; PEREZ, P.; ESTRELA, J. M.; Changes in glutathione status and the antioxidant system in blood and in cancer cells associate with tumour growth *in vivo*. **Free Radical Biology & Medicine**, v.26, n.3/4, p. 410-418, 1999.

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

NETTO, C. B.; SIQUEIRA, I. R.; FOCHESSATTO, C.; PORTELA, L. V.; TAVARES, M. P.; SOUZA, D. O.; GIULIANI, R.; GONÇALVES, C. A.; S100B content and SOD activity in amniotic fluid of pregnancies with dow syndrome. **Clinical Biochemistry**, v. 37, p. 134-137, 2004.

NIELSEN, F.; MIKKELSEN, B. B.; NIELSEN, J. B.; ANDERSEN, H. R.; GRANDJEAN, P. Plasma malondialdehyde as biomarker for oxidative stress: reference interval and effects of life-style factors. **Clinical Chemistry**, v.43, n.7, p. 1209-1214, 1997.

NIRENBERG, D. W. Serum and plasma a-carotene levels measured with an improved method of hight-performance liquid chromatography. **Journal of Chromatography**, v. 339, p. 273-284, 1985.

NUCLEO DE ESTUDOS E PESQUISAS EM ALIMENTAÇÃO (NEPA). **Tabela Brasileira de Composição de Alimentos – TACO**. Versão II. Campinas, NEPA-UNICAMP, 2006. 105p.

OKOSHI, M. P; OKOSHI, k.; ZORNOFF, L. A. M.; INOUE, R. M. T.; PAIVA, S. A. R.; MATSUBARA, L. S. Epidemiologia da hipertensão arterial sistêmica. **Revista da Sociedade Brasileira de Hipertensão**, v.7, n.3, p.86-89, 2004.

OLAS, B.; NOWAK, P.; WACHOWICZ, B. Resveratrol protects against peroxynitrite-induced thiol oxidation in blood platelets. **Cellular & Molecular Biology Letters**, v.9, n. 4A, p. 577-587, 2004.

OLMOS, R. D.; LOTUFO, P. A. Epidemiologia da hipertensão arterial NO Brasil e no mundo. **Revista Brasileira de Hipertensão**, v.9, n.1, p.21-23, 2002.

OWENS, C. W.; BELCHER, R. V. A colorimetric micro-method for the determination of glutathione. **Biochemistry Journal**, v. 94, p. 705-711, 1965.

OZGUNES, H.; GURER, H.; TUNCER, S. Correlation between plasma malondialdehyde and ceruloplasmin activity values in rheumatoid arthritis. **Clinical Biochemistry**, v.28, p. 193-194, 1995.

PAGANO, G.; KORKINA, L. G.; BRUNK, U. T.; CHESSA, L.; DEGAN, P.; DEL PRINCIPE, D.; KELLY, F. J.; MARLONI, W.; PALLARDÓ, F.; PASQUIER, C.; SCOVASSI, I.; ZATTERALE, A.; FRANCESCHI, C. Congenital disorders sharing oxidative stress and cancer proneness as phenotypic hallmarks: prospects for joint research in pharmacology. **Medical Hypothesis**, v. 51, p. 253-266, 1998.

PAGLIA D. E.; VALENTINE W. N. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. **Journal of Laboratories & Clinical Medical**, v. 70, n.1, p. 158-169, 1967.

PAPAS, A. M. Determinants of antioxidant status in humans **Lipids**, v. 31 p. 77-82, 1996.

PAPP, A.; NÉMETH, I.; KARG, E.; PAPP, E. Glutathione status in retinopathy of prematurity. **Free Radical Biology & Medicine**, v 27, n. 7/8, p. 738-743, 1999.

PARAVICINI, T. M.; CHRISOBOLIS, S.; DRUMMOND, G. R.; SOBEY, C. G. Increased NADPH-oxidase activity and Nox4 expression during chronic hypertension is associated with enhanced cerebral vasodilatation to NADPH *in vivo*. **Stroke**, v. 35, p. 584-589, 2004.

PARAVICINI, T. M.; TOUYZ, R. M. Redox signaling in hypertension. **Cardiovascular Research**, v.71, p. 247-258, 2006.

PARK, J. B.; TOUYZ R. M.; CHEN, X.; SCHIFFRIN, E. L. Chronic treatment with a superoxide dismutase mimetic prevents vascular remodeling and progression of

hypertension in salt-loaded stroke-prone spontaneously hypertensive rats. **American Journal of Hypertension**, v.1, p. 78-84, 2002.

PAVIA, D. L.; LAMPMAN, G. M.; KRIS, G. S. Ultraviolet Spectroscopy. In: **Introduction to Spectroscopy. A guide for Students of Organic Chemistry**. 2 ed. Washington, Sanders Golden Sunburst Series, 1979. p. 267-301. 511p.

PEDRO-BOTET, J.; COVAS, M.I.; MARTIN, S.; RUBIES-PRAT, J. Decrease endogenous antioxidant enzymatic status in essential hypertension. **Hypertension**, v. 14, p. 343-345, 2000.

PELLINI, V. B. Lipoproteínas modificadas e aterogênese. **Jornal Brasileiro de Medicina**, v.61, p. 25-28, 1991.

PHILIPPI, S. T. **Tabela de composição de alimentos: suporte para decisão nutricional**. 2 ed. São Paulo, Coronário, 2002, 135p.

PIETTA, P-G. Flavonoids as antioxidants. **Journal of Natural Products**, v.63, p. 1035-1042, 2000.

PINHEIRO, A. B. V.; LACERDA, E. M. A.; BENZECRY, E. H.; GOMES, M. C. S.; COSTA, V. M. **Tabela para avaliação de consumo alimentar em medidas caseiras**. 3 ed revista e ampliada, Rio de Janeiro. 1996, 75p.

PINTO, R. E.; BARTLEY, W. Effect of age and sex on glutathione reductase and glutathione peroxidase activities and on aerobic glutathione oxidation in rat liver homogenates. **Biochemistry Journal**, v. 112, p.109-115, 1969.

POLIDORI, M. C.; STAHL, W.; ETCHLER, O.; NIESTROI, I.; SIES, H. Profiles of antioxidants in human plasma. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 30, n. 5, p. 456-462, 2001.

PORTALUPPI, F.; BOARI, B.; MANFREDINI, R. Oxidative stress in essential hypertension. **Current Pharmaceutical Design**, v. 10, n. 14, p. 1695-1698, 2004.

POWELL, J. T.; MULLER, B. R.; GREENHALGH, R. M. Acute phase proteins in patients with abdominal aortic aneurysms. **Journal of Cardiovascular Surgery**, v. 28, p. 528-530, 1987.

PRATICÒ, D. Antioxidants and endothelium protection. **Atherosclerosis**, v. 181, p. 215-224, 2005.

PRIOR, R. L.; CAO, G. *In vivo* total antioxidant capacity comparison of different analytical methods. **Free Radical Biology & Medicine**, v.27, n. 11/12, p.1173-1181, 1999.

PRYOR, W. Vitamin E and heart disease: basic science to clinical intervention trials. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 28, p. 141-164, 2000.

PUCHEU, S.; COUDRAY, C.; VANAZETTO, G.; FAVIER, A.; MACHECOURT, J.; DE LEIRIS, J. Assessment of radical activity during the acute phase of myocardial infarction following fibrinolysis: Utility of assaying plasma malondialdehyde. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 19, n. 6, p. 873-881, 1995.

RADI, R.; PELUFFO, G.; ALVAREZ, M. N.; NAVILIAT, M.; CAYOTA, A. Unraveling peroxyxynitrite formation in biological systems. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 30, n. 5, p. 463-488, 2001.

RAIJMAKES, M. T. M.; DECHEND, R.; POSTON, L. Oxidative stress and preeclampsia. Rationale for antioxidant clinical trial. **Hypertension**, v. 44, p.374-380, 2004.

RAJAGOPLAN, S.; KURTZ, S.; MUNZEL, T.; TARPEY, M.; FREEMAN, B. A.; GRIENDLIN, K. K.; HARRISON, D. G. Angiotensin II-mediated hypertension in the rat increase vascular superoxide production via membrane NADH/NADPH oxidase activation. Contribution to alteration of vasomotor tone. **The Journal of Clinical Investigation**, v. 97, p.1916-1923, 1996.

RAMACHANDRAN, A.; LEVONEN, A-L.; BROOKES, P. S.; CEASER, E.; SHIVA, S.; BARONE, M. C.; DARLEY-USMAR, V. Mitochondria, nitric oxide, and cardiovascular dysfunction. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 33, n.11, p.1465-1434, 2002.

RAYMAN, M. P. The importance of selenium to human health. **Lancet**, v.356, p. 233-41, 2000.

RE, R.; PELLEGRINI, N.; PROTEGGENTE, A.; PANNALA, A.; YANG, M.; RICE-EVANS, C. Antioxidant activity applying and improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology & Medicine**, v.26, n. 9/10, p.1239-1237, 1999.

RECKELHOFF, J. F.; ROMERO, C. Role of oxidative stress in angiotensin-induced hypertension. **American Journal of Physiology Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v. 284, p.R893-R912, 2003. www.ajpregu.org

RÉDON, J.; OLIVA, M. R.; TORMOS, C.; GINER, V.; CHAVES, J.; IRADI, A.; SÁEZ, T. Antioxidant activities and oxidative stress byproducts in human hypertension. **Hypertension**, v. 41, p. 1096-1101, 2003.

REGOLI, F.; WINSTON, G. W. Quantification of total oxidant scavenging capacity of antioxidants for peroxyxynitrite, peroxy radicals and hydroxyl radicals. **Toxicology Applied Pharmacology**, v. 156, p.96-105, 1999.

REUNANEN, A.; KNEKT, P.; AARAN, R-K. Serum ceruloplasmin level and the risk of myocardial infarction and stroke. **American Journal of Epidemiology**, v. 136, n. 9, p. 1082-1090, 1992.

REVISTA DA SOCIEDADE DE CARDIOLOGIA DO ESTADO DE SÃO PAULO.
ENDOTELIO. v. 6, n.2, 1996.

RIBEIRO, A. B.; CARDOSO, M. A. Construção de um questionário de frequência alimentar como subsídio para programas de prevenção de doenças crônicas não transmissíveis. **Revista de Nutrição**, v. 15, n. 2, p.239-245, 2002.

RIZZONI, D. Endothelial dysfunction in hypertension: fact or fantasy? **Journal of Hypertension**, v. 20, p. 1479-1481, 2002.

ROBERTS, L.J.; MORROW, J. D. Measurement of F2-isoprostanes as an index of oxidative stress in vivo. **Free Radical Biology & Medicine**, v.28, n.4, p. 505-513, 2000.

RODRIGO, R.; PASSALACQUA, W.; ARAYA, J.; ORELLANA, M.; RIVERA, G. Implications of oxidative stress and homocysteine in the pathophysiology of essential hypertension. **Journal of Cardiovascular Pharmacology**, v. 42, p. 453-461, 2003.

RODRIGUEZ-INTURBE, B.; ZHAN, C. D.; QUIROZ, Y.; SINDHU, R. K.; VAZIRI, N. D. Antioxidant-rich diet relieves hypertension and reduces renal immune infiltration in spontaneously hypertensive rats. **Hypertension**, v. 41, p. 341-346, 2003.

ROMERO, J. C.; RECKELHOFF, J. F. Oxidative stress may explain how hypertension is maintained by normal levels of angiotensin II. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 33, p. 653-660, 2000.

ROUM, J. H.; BUHL, R.; MCELVANEY, N. G.; BORO, Z.; CRYSTAL, R. G. Systemic deficiency of glutathione in cystic fibrosis. **Journal of Applied Physiology**, v. 75, p. 2419-2424, 1993.

ROVER JR, L.; HÖERHR, N. F.; VELLASCO, A. P.; KUBOTA, L. T. Sistema antioxidante envolvendo o ciclo metabólico da glutatona associado a métodos eletroanalíticos na avaliação do estresse oxidativo. **Quimica Nova**, v. 24, n.1, p.112-119, 2001.

SÁEZ, G. T.; TORMOS, C.; GINER, V.; CHAVES, J.; LOZANO, J. V.; IRADI, A.; RÉDON, J. Factors related to impact of antihypertensive treatment in antioxidant activities and oxidative stress by-products in human hypertension. **American Journal of Hypertension**, v. 17, p. 809-816, 2004.

SACKS, F. M.; SVETKEY, L. P.; VOLLMER, W. M.; APPEL, L. J.; BRAY, G. A.; HARSHA, D.; OBAZANEK, E.; CONLIN, P. R.; MILLER, E. R.III; SIMONS-MORTON, D. G.; KARANJA, N.; LIN, P-H.; AICKNIN, M.; MOST-WINDHAUSER, M. M.; MOORE, T. J.; PROSCHAN, M. A. Effects on blood pressure of reduced dietary sodium and the dietary approaches to stop hypertension (DASH) diet. **New England Journal of Medicine**, v. 344, p. 3-10, 2001.

SALONEN, J. T.; SALONEN, R.; SEPPANEN, K.; KANTOLA, M.; SUNTIOINEN, S.; KORPELA, H. Interactions of serum copper, selenium and low density lipoprotein cholesterol in atherogenesis. **Britain Medical Journal**, v.302, p. 756-760, 1991(a).

SALONEN, J. T.; SALONEN, R.; KORPELA, H.; SUNTIOINEN, S.; TUOMILEHTO, J. Serum copper and the risk of acute myocardial infarction: a prospective population study in mean in eastern Finland. **American Journal of Epidemiology**, v. 134, p. 268-276, 1991(b).

SALVI, A.; BRHLMANN, C.; MIGLIAVACCA, E.; CARRUPT, P-A.; HOSTETTMANN, K.; TESTA, B. Protein protection by antioxidants: development of a convenient assay and structure-activity relationships of natural polyphenols. **Helvetica Chimica Acta**, v. 85, n. 3, p. 867-881, 2002.

SAMIEC, P. S. D.; DREWS-BOTSCH, C.; FLAGG, E. W.; KURTZ, J. C.; STERNBERG JR., P.; REED, R. L.; JONES, D. P. Glutathione in human plasma: decline in association with aging, age-related macular degeneration, and diabetes. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 24, n.30, p. 699-704, 1998.

SAMOKYSZYN, V. M.; MILLER, D. M.; REIF, D. W.; AUST, S. D. Inhibition of superoxide and ferritin-dependent lipid peroxidation by ceruloplasmin. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 264, p. 21-26, 1989.

SAMPAIO, W. O.; SANTOS, R. A. S. Aplicações clínicas dos mecanismos fisiopatológicos da hipertensão arterial. sistema renina-angiotensina: bases fisiopatológicas. **Revista Brasileira de Hipertensão**, v. 11, n.1, p. 67-70, 2004.

SÀNCHEZ-MORENO, C. Review: methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. **Food Science Technology International**, v. 8, n. 3, p. 121-137, 2002.

SANTOS, C. X. C.; ANJOS, E.I.; AUGUSTO, O. Uric acid oxidation by peroxynitrite: multiple reactions, free radical formation and amplification of lipid oxidation. **Archives of Biochemistry and Biophysic**, v. 372, p. 285-294, 1999.

SCHAFFER, F.Q., BUETTNER, G. R. Redox environment of the cell as viewed through the redox state of the glutathione disulfide/glutathione couple **Free Radical Biology & Medicine**, v.30, p. 1191- 1212, 2001.

SCHEIBMEIR, H. D.; CHRISTENSEN, K.; WHITAKER, S. H.; JEGAETHESAN, J.; CLANCY, R.; PIERCE, J.D. A review of free radicals and antioxidants for critical care nurses. **Intensive and Critical Care Nursing ICCN**. V. 21, n. 1, p. 24-28, 2004.

SCHIEBER, A.; CARLE, R. Occurrence of carotenoid cis-isomers in food: technological, analytical, and nutritional implications. **Trends in Food Science & Technology**. v.16, p. 416-422, 2005.

SHACTER, E. Quantification and significance of protein oxidation in biological samples. **Drug Metabolism Review**, v.32, n.3/4, p. 307-326, 2000.

SHOKOJI, T.; NISHIYAMA, A.; FUJISAWA, Y.; HITOMI, H.; KIYOMOTO, H.; TAKAHASKI, N.; KIMURA, S.; KOHONO, M.; ABE, Y. real sympathetic nerves response to tempol in spontaneously hypertensive rats. what is the clinical significance? **Hypertension**, v. 41, p. 266-273, 2003.

SHUKLA, N.; MAHER, J.; MASTERS J.; ANGELINI, G. D.; JEREMY, J. Y. Does oxidative stress change ceruloplasmin from a prospective to a vasculopathic factor? **Atherosclerosis**, v. 187, p.238-250, 2006.

SIES, H. Glutathione and its role in cellular functions. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 27, n.9/10, p. 916-921, 1999.

SIES, H.; STAHL, W.; SUNDQUIST, A. R. Antioxidant functions of vitamins. Vitamins E and C, beta-carotene, and other carotenoids. **Annals New York Academy Sciences**, v. 669, p.7-20, 1992.

SILVERSTEIN, R.M.; BASSLER, G. C.; MORRIL, T. C. Espectrometria no Ultravioleta. In: **_ Identificação Espectrométrica de Compostos Orgânicos**. 5 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1994. p. 263-284, 387p.

SIMIC, M.G.; JOVANOVIC, S. V. Antioxidant mechanisms of uric acid. **Journal of the American Chemical Society**, v.111, n.15, p.5788-5782, 1989.

SKALSKA, A.; GASOWSI, J.; STEPNIEWSKI, M.; GRODZICKI, T. Antioxidative protection in hypertensive patients treated with diuretics. **American Journal of Hypertension**, v. 18, p. 1130-1132, 2005.

SKIBOLA, C. F.; SMITH, M. T. potential health impacts of excessive flavonoid intake. **Free Radical Biology & Medicine** , v.29 , n. 3-4, p. 375-383, 2004.

SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J.; NIEMAN, T.A. **Princípios de Análise Instrumental**. 5 ed, Porto Alegre, Bookman. 2002, 836p.

SLATER, B.; MARCHIONI, D. L.; FISBERG, R. M. Estimando a prevalência da ingestão inadequada de nutrientes. **Revista de Saúde Pública**, v. 38, n. 8, p. 599-605, 2004

STEINBERG, D.; WITZTUM, J.L. Is the Oxidative modification hypothesis relevant to human atherosclerosis? do the antioxidant trials conducted to date refute the hypothesis? **Circulation**, v. 105, p. 2107-2111, 2002.

SOBAL, G.; MENZEL, J.; SINZINGER, H. Why is glicated LDL more sensitive to oxidation than native LDL? a comparative study. **Prostaglandins, Leukotrienes and Essencial Fatty-Acids**, v. 63, n. 4, p.177-186, 2000.

SOWEL, J.; CONWAY, H.; BRUNO, R. S.; TRABER, M. G.; FREI, B.; STEVENS, J. F. Ascorbylated 4-hydroxy-2-nonenal as potential biomarker of oxidative stress. **Journal of Chromatography B**, v. 827, p.139-145, 2005.

SRIVASTAVA, S.; SRIVASTAVA, R-G. Proteomics in the forefront of cancer biomarker discovery. **Journal of Proteome Research**, v. 4, p. 1098-1103, 2005.

STOCKS, J.; GUTTERIDGE, J. M. C.; SHARP, R. J.; DORMANDY, T. L. The inhibition of lipid autoxidation by human serum and its relation to serum proteins and α -tocopherol. **Clinical Sciences Molecular Medical**, v. 47, n. p. 223-233, 1974.

SU, Q.; ROWLEY, K. G.; O'DCA, K. Stability of individual carotenoids, retinol and tocopherols in human plasma during exposure to light and after extraction. **Journal of Chromatography B**, v. 729, p. 191-198, 1999.

SUNDAL, S.; SHARMA, M.; NEGI, P. C.; KATOCH, S. S. Oxidative stress and antioxidant profile in patients of health failure. **Asian Journal of Experimental Sciences**, v. 19, n. 1, p.41-58, 2005.

SULLIVAN, J. M. Salt sensivity. Definition, conception, methodology, and long-term issues. **Hypertension**, v. 17, S. I, p. I-61-I68, 1991.

TADEI, S.; VIRDIS, A.; GHIADONI, L.; VERSARI, D.; SALVETTI, G.; MAGAGNA, A.; SALVETTI, A. Calcium antagonist treatment by lercanidipine prevents hyperpolarization in essential hypertension. **Hypertension**, v. 41, p. 950-955, 2003.

TANG, P. H.; MILES, M. V.; DE GRAUW, A.; HERSHEY, A.; PESCE, A. HPLC analyses of reduced and oxidized coenzyme Q10 in human plasma. **Clinical Chemistry**, v. 47, n.2, p. 256-265, 2001.

TANITO, M.; NAKAMURA, H.; KWON, Y. W.; TERATANI, A.; MASUTANI, H.; SHIOJI, K.; ISHIMOTO, C.; OHIRA, A.; HORIE, R.; YODOI, J. Enhanced oxidative stress and impaired thioredoxin expression in spontaneously hypertensive rats **Antioxidant Redox Signal**, v. 6, p. 89-97, 2004.

THE SIXTH REPORT OF THE JOINT NATIONAL COMMITTEE ON PREVENTION, DETECTION EVALUATION AND TREATMENT OF HIGH BLOOD PRESSURE – VI JOINT. **Archives Internal of Medicine**; v. 157, p. 2413-2445, 1997.

THERIAULT, A.; CHAO, J-T.; WANG, Q.; GAPOR, A.; ADELI, K. Tocotrienol: a review of its therapeutic potential. **Clinical Biochemistry** , v. 32, n. 5, p. 309-319, 1999.

THEROND, P.; BONNEFONT-ROUSSELOT, D.; DAVIT-SPRAUL, A.; CONTI, M.; LEGRAND, A. Biomarkers of oxidative stress : an analytical approach **Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care**, v.3, p. 373-384, 2000.

THOMAS, M. J. The role of free radicals and antioxidants: how do we know that they are working? **Critical Review in Food Science and Nutrition** , v. 35 , n.1 & 2, p. 21- 39, 1995.

TIEN, M.; BERLETT, B. S.; LEVINE, R. L.; CHOCK, P. B.; STADMAN, R. Peroxynitrite-mediated modification of proteins at physiological carbon dioxide concentration: pH dependence of carbonyl formation, tyrosine nitration, and methionine oxidation. **Proceeding of the National Academy of Sciences of the USA**, v. 96, p.7809-7814, 1999.

TIETZE, F. Enzymic method for quantitative determination of nanogram amounts of total and oxidized glutathione; applications to mammalian blood and other tissues. **Analytical Biochemistry**, v. 27, p.502-522, 1965.

TOUYZ, R. M. Oxidative stress and vascular damage in hypertension. **Currents Hypertension Reports**, v. 2, p. 98-105, 2000.

TOUYZ, R. M. Reactive oxygen species, vascular oxidative stress, and redox signaling in hypertension. What is the clinical significance? **Hypertension**, v. 44, p. 248-252, 2004.

TOUYZ, R. M.; SCHIFFRIN, E. L. Reactive oxygen species in vascular biology: implications in hypertension. **Histochemistry Cell Biology**, v. 122, p. 339-359, 2004 .

TRABER, M. G. Vitamina E. In: SHILS, M. E.; OLSON, J. A; SHIKE, M.; ROSS, A. C. **Tratado de Nutrição Moderna na Saúde e na Doença**. 9 ed. São Paulo, Manole, 2002, v. I p. 369 – 385.1026p.

TREVISAN M, BROWN R, RAM M, MUTI P, FREUDENHEIM J, CAROSELLA AM, ARMSTRONG D. Correlates of markers of oxidative status in the general population. **American Journal of Epidemiology**, v. 154, n.4, 348-356. 2001.

TRICOPOULOU, A.; COSTACOU, T.; BAMIA, C.; TROCOPOULOS, D. Adherence to a mediterranean diet and survival in a greek population. **New England Journal of Medicine**, v.348, n. 26, p. 2599-2608, 2003.

TRIGO, M. **Metodologia de inquérito dietético: estudo do método recordatório de 24 horas**. São Paulo, 1993. 133p. (Tese) – Faculdade de Saúde pública, Universidade de São Paulo.

TRUSCOTT, T. G. β -carotene and disease: a suggested pro-oxidant and antioxidant mechanism and speculations concerning its role in cigarette smoking. **Journal Photochemistry Photobiology B**, v.35, p. 233-235, 2001.

TURNLUND, J. R.; Cobre. In: SHILS, M. E.; OLSON, J. A; SHIKE, M.; ROSS, A C. **Tratado de Nutrição Moderna na Saúde e na Doença**. 9 ed. São Paulo, Manole, 2002, v. I, 1026p., p. 257 – 269.

TURUNEN, M.; OLSSON, J.; DALLNER, G. Metabolism and function of coenzyme Q. **Biochemistry Biophys Acta** , v.1660, p.171-199, 2004.

ÜLKER, S.; MCKEOWN, P. P.; BAYRAKTUTAN, U. Vitamins reverse endothelial dysfunction through regulation of eNOS and NAD(P)H oxidase activities. **Hypertension.**, v.41, p. 534-539, 2003.

URIU-ADAMS, J. Y.; KEEN, C. L. Copper, oxidative stress, and human health. **Molecular Aspects of Medicine**, v. 26, p. 268-298, 2005.

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

VALKRO, M. ; RHODES, C.J. ; MONCOL, J. ; IZAKOVIC, M. ; MAZUR, M. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer . **Chemico-Biological Interactions**, v.160 , p.1-40, 2006.

VASCONCELOS, S. M. L. **Manual de avaliação nutricional de enfermos nas diversas etapas da vida**. 2 ed revista e ampliada, Maceió, EDUFAL. 2003, 148 p.

VASSILIEV,V.; HARRIS, Z.L.;ZATTA, P. Ceruloplasmin in neurodegenerative diseases, **Brain Research Review**, v. 49, p. 633-640, 2005.

VENDEMIALE, G.; GRATAGLIANO, I.; ALTOMARE, E. An update on the role of free radicals and antioxidant defense in human disease. **Internal Journal of Clinical Laboratory Research**, v. 29, p.49-55, 1999.

VERTUANI, S.; ANGUSTI, A.; MANFREDINI, S. The antioxidants and pro-antioxidants network: an overview. **Current Pharmacology Design**, v. 10, p. 1677-94, 2004.

VIOLI, F.; LOFFREDO, L.; MUSELLA, L.; MARCOCCIA, A. Should antioxidant status be considered in interventional trial with antioxidants? **Heart**, v.90, p.598-602, 2004.

VITZTHUM, F.; BEHRENS, F.; ANDERSON, N. L.; SHAW, J.H. Proteomics: from basic research to diagnostic application. A review of requirements & needs. **Journal of Proteome Research**, v. 4, p.1086-1097, 2005.

VIVANCO, F.; MARTÍN-VENTURA, J. L.; DURAN, M. C.; BARDERAS, M. G.; BLANCO-COLIO, L.; DARDÉ, V. M.; MAS, S.; MEILHAC, O.; MICHEL, J. B.; TUÑÓN, J.; EGIDO, J. Quest for novel cardiovascular biomarkers by proteomic analysis. **Journal of Proteome Research**, v.4, p. 1181-1191, 2005.

VIVEKANANTHAN, D. P.; PENN, M-S.; SAAP, S. K.; HSU, A.; TOPOL, E. J. Use of antioxidant vitamins for the prevention of cardiovascular disease: meta-analysis of randomised trials. **Lancet**, v. 361, p. 2029-2033, 2003.

WARD, N. C.; HODGSON, J. M.; PUDDEY, I. B.; MORI, T. A.; BEILIN, L. J.; CROFT, K. D. Oxidative stress in human hypertension: association with

antihypertensive treatment, gender, nutrition, and lifestyle. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 36, n.2, p.226-232, 2004.

WASSMANN, S.; WASSMANN, K.; NICKENIG, G. Modulation of oxidant and antioxidant enzyme expression and function in vascular cells. **Hypertension**, v. 44, p.381-386, 2004.

WATTANAPITAYAKUL, S. K.; BAUER, J. A. Oxidative pathways in cardiovascular disease. Roles, mechanisms and therapeutic implications. **Pharmacology & Therapeutics**, v. 89, p.187-206, 2001.

WAYNER, D. D. M.; BURTON, G. W.; INGOLD, K. U.; Quantitative measurement of the total peroxy radical-trapping antioxidant capability of human blood plasma by controlled peroxidation. **Journal of Federation of European Biochemical Societies (FEBS Letters)**, v. 187, n.1, p. 33-37, 1985.

WILCOX, C. S. Oxidative stress and nitric oxide deficiency in the kidney: a critical link to hypertension? **American Journal of Physiology- Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v. 389, p. R913-R9351, 2005.

WILLCOX, J.K.; CATIGNANI, G. L.; LAZARUS, S. Tomatoes and cardiovascular health. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 43 , n.1, p.1-18, 2003.

WILLETT, W. **Nutritional Epidemiology**. New York, Oxford University Press, 2 ed, 1998, 94 p.

WINKLHOFER-ROOB, B. M.; ROCK, E.; RIBALTA, J.; SHMERLING, D. H.; ROOB, J. M. Effects of vitamin E and carotenoid status on oxidative stress in health and disease. Evidence obtained from human intervention studies. **Molecular Aspects of Medicine**, v.24, p.391-402, 2003.

WINKLHOFER-ROOB, B. M.; MEINITZER, A.; MARITSCHNEGG, M.; ROOB, J. M.; KHOSCHSORUR, G.; RIBALTA, J.; SUNDL, I.; WUGA, S.; WONISCH, W.; TIRAN, B.; ROCK, E. Effects of vitamin E depletion/repletion on biomarkers of oxidative stress in healthy aging. **Annals New York Academy Sciences**, v.1031, p.361-364, 2004.

WINTER M J. Chemical Bonding. In:___ **Diatomic molecules**. Oxford Chemistry Primers, Oxford University Press, Oxford, 1994. 32-56.

WISEMAN H. Dietary influences on membrane function: importance in protection against oxidative damage and disease. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 7, p.2-15, 1996.

WU, T.; RIFAI, N.; ROBERTS II, L. J.; WILLETT, W. C.; RIMM, E. B. Stability of measurements of biomarkers of oxidative stress in blood over 36 hours. **Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention**, v.13, n. 8, p.1399-1402, 2004.

WU, J. M.; WANG, Z-R.; HSIEH, T-C.; BRUDER, J. L.; ZOU, J-G.; HUANG, Y-Z. Mechanism of cardioprotection by resveratrol, a phenolic antioxidant present in red wine (review). **Internation Journal of Molecular Medicine**, v. 8, p.3-17, 2001.

YAMASHOJI, S.; KAJIMOTO, G. Antioxidant effect caeruloplasmin on microsomal lipid peroxidation **FEBS Letters** , v. 152, n.2, p.168-170, 1983.

YOSHINA, K.; MATSUURA, T.; SANO, M.; SAITO, S.; TOMITA, I. F. Fluorimetric liquid chromatographic determination of aliphatic arising from lipid peroxides. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, v. 34, p. 1694-1700, 1986.

YUSUF S.; HAWKEN, S.; ÔUNPUU, S.; DAUS, T.; AVEZUM A.; LANAS, F.; MCQUEEN, M.; BUDAJ, A.; PAIS, P.; VARIGOS, J.; LISHENG, L. effect of potentially modifiable risk factors associated with myocardial infarction in 52 countries (the INTERHEART study): case-control study. **The Lancet**, v.364, p. 937-952, 2004.

ZABOTO, C. B. **Registro fotográfico para inquéritos dietéticos: utensílios e porções**. Goiânia, METHA. 1996, 74p.

ZAFARI, A. M.; USHIO-FUKAI, M.; AKERS, M.; YIN, Q.; SHAH A.; HARRISON, D. G; TAYLOR, W. R.; GRIENDLING, K. K. Role of NADH/NADPH oxidase-derived H₂O₂ in angiotensin II-induced vascular Hypertrophy. **Hypertension**, v. 32, p. 488-495, 1998.

ZALBA, G.; SAN JOSÉ, G.; MORENO, M. U.; FORTUÑO, M. A.; FORTUÑO, A., BEAUMONT, F.J.; DIEZ, J. Oxidative stress in arterial hypertension. Role of NAD(P)H oxidase. **Hypertension**, v.38, p. 1935-1939, 2001.

ZHOU, X. J.; VAZIRI, N. D.; WANG X. Q.; SILVA, F.G.; LASZIK, Z. Nitric oxide syntase expression in hypertension induced by inhibition of glutathione synthase. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapy**, v. 300, n. 3, p. 762-767, 2002.

ZWART, L. L.; MEERMAN, J. N. M; COMANDEUR, VERMEULEN, N. P. E. Biomarkers of free radical damage applications in experimental animals and in in experimental animals and in humans. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 26, n. 1/2, p. 202-226, 1999.

APÊNDICES

Apêndice 1

Programação Coleta de Dados do projeto de pesquisa “Hábitos Alimentares e Estado Nutricional de Hipertensos e Diabéticos. Uma Contribuição às Ações de Controle de Fatores de Risco Cardiovascular do HIPERDIA – MS do Município de Flexeiras – AL”

Período/ Dias da semana	terça	quarta	quinta	sexta
04 a 07 Janeiro 2005	PSF II (zona rural) Fazendas Laranjeiras Crioulos Caldeirão Amolar Parariz Santa Luzia Boa Hora	PSF II (zona rural) Fazendas Vitória da conquista Cobras Novo mundo Propriá Nova conquistista	PSF IV (zona urbana) Clube municipal	PSF II (zona rural) Fazendas Nova vida Peixinho São João Mariazinha Gibraltar Santana Sítio do meio Mauriti
11 a 14 Janeiro 2005	23 hipertensos PSF V (zona urbana) Clube municipal	9 hipertensos PSF I (zona rural) Usina Peixe	89 hipertensos PSF III (zona urbana) Abrigo dos idosos	38 hipertensos PSF I (zona rural) Fazendas Sacalão Sequidão
	80 hipertensos	24 hipertensos (10 não estavam em jejum)	96 hipertensos (6 não estavam em jejum)	11 hipertensos (5 não estavam em jejum)

Apêndice 1

Programação da repescagem para Coleta de Dados do projeto de pesquisa “Hábitos Alimentares e Estado Nutricional de Hipertensos e Diabéticos. Uma Contribuição às Ações de Controle de Fatores de Risco Cardiovascular do HIPERDIA – MS do Município de Flexeiras – AL”

Repescagem 1 18/01/2005	Repescagem 2 25/01/2005	Repescagem 3 29/04/2005	Repescagem 4 03/05/2005	Repescagem 6 16/06/2005
PSF I (zona rural) Usina Peixe	PSFs III, IV e V (zona urbana) Clube municipal	PSFs I, III e V (zona rural e urbana) Clube municipal	PSF V (zona rural) Clube municipal	PSFs III, IV e V (zona urbana) Clube municipal
30 hipertensos	54 hipertensos	16 hipertensos	3 hipertensos	26 hipertensos

projeto de pesquisa “Hábitos Alimentares e Estado Nutricional de Hipertensos e Diabéticos. Uma Contribuição às Ações de Controle de Fatores de Risco Cardiovascular do HIPERDIA – MS do Município de Flexeiras – AL”

Preparo para o exame de sangue para avaliação bioquímica

Jejum de 12 a 14 horas antes do exame

Manter dieta habitual

Evitar álcool nas últimas 24 horas antes da coleta

Evitar exercícios físicos vigorosos nas últimas 24 horas antes da coleta

projeto de pesquisa “Hábitos Alimentares e Estado Nutricional de Hipertensos e Diabéticos. Uma Contribuição às Ações de Controle de Fatores de Risco Cardiovascular do HIPERDIA – MS do Município de Flexeiras – AL”

Preparo para o exame de sangue para avaliação bioquímica

Jejum de 12 a 14 horas antes do exame

Manter dieta habitual

Evitar álcool nas últimas 24 horas antes da coleta

Evitar exercícios físicos vigorosos nas últimas 24 horas antes da coleta



UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

Maceió – AL, 02 / 03 / 05

Senhor (a) Pesquisador (a),

O Comitê de Ética em Pesquisa (CEP), reunido em 24 / 02 / 05 e com base no parecer emitido pelo (a) relator (a) do processo nº 013287/2004-11 sob o título Hábitos Alimentares e Estado Nutricional de Hipertensos e Diabéticos Uma Contribuição às Ações de Controle de Fatores de Risco Cardiovascular do Hipertenso - MS do município de Maceió - AL. de sua autoria, vem por meio deste instrumento comunicar sua aprovação com base no item VIII.13, b, da Resolução nº 196/96.

Outrossim, recomendamos a observância do que consta na folha de rosto com respeito ao cumprimento dos prazos para entrega de relatórios, bem como o atendimento da referida Resolução, sobretudo no que se refere aos itens III, IV e V, (proteção ao sujeito) e das demais Resoluções da CONEP /CNS, quando for o caso (*).

Na eventualidade, de esclarecimentos adicionais este Comitê coloca-se à disposição dos interessados para o acompanhamento da pesquisa em seus dilemas éticos e exigências contidas nas Resoluções supra referidas.

(*) Áreas temáticas Especiais



MINISTÉRIO DA SAÚDE - Conselho Nacional de Saúde - Comissão Nacional de Ética em Pesquisa - CONEP
FOLHA DE ROSTO PARA PESQUISA ENVOLVENDO SERES HUMANOS
 (versão outubro/99) Para preencher o documento, use as indicações da página 2.

1. Projeto de Pesquisa: Hábitos Alimentares e Estado Nutricional de Hipertensos e Diabéticos. Uma Contribuição às Ações de Controle de Fatores de Risco Cardiovascular do HÍPERDIA - MS do Município de Flexeiras - AL			
2. Ano do Conhecimento (Ver relação no verso) Ciências da Saúde - NUTRIÇÃO	3. Código: 4.05	4. Nível: (Só áreas do conhecimento 4) EPIDEMIOLÓGICO	
5. Área(s) Temática(s) Especial (s) (Ver fluxograma no verso)	6. Código(s):	7. Fase: (Só área temática 3) I () II () III () IV ()	
8. Unificamos: (3 opções) HIPERTENSÃO ARTERIAL, DIABETES MELLITUS, AVALIAÇÃO NUTRICIONAL SUJEITOS DA PESQUISA			
9. Número de sujeitos No Centro: Total: 303	10. Grupos Especiais: <18 anos () Portador de Deficiência Mental () Embrão/Feto () Relação de Dependência (Estudantes, Militares, Presidiários, etc) () Outros (X) Não se aplica ()		
PESQUISADOR RESPONSÁVEL			
11. Nome: Sandra Mary Lima Vasconcelos			
12. Identidade: 404 998 - AL	13. CPF: 332.573.291-15	19. Endereço (Rua, n.º): Av Dr Hamilton Falcão, Cond. Chácaras da Lagoa, F/13, Santa Amélia.	
14. Nacionalidade: Brasileira	15. Profissão: Nutricionista	20. CEP: 57080-000	21. Cidade: Maceió
16. Melhor Título: Mestre	17. Cargo: Professor Adjunto	23. Fone: (82) 342 2201	22. U.F. Alagoas
18. Instituição a que pertence: Universidade Federal de Alagoas		25. Email: sandrimary@uol.com.br	
Termo de Compromisso: Declaro que conheço e cumprirei os requisitos da Res. CNS 196/96 e suas complementares. Comprometo-me a utilizar os materiais e dados coletados exclusivamente para os fins previstos no protocolo e a publicar os resultados sejam eles favoráveis ou não. Aceito as responsabilidades pela condução científica do projeto acima. Data: 09/12/2004			
INSTITUIÇÃO ONDE SERÁ REALIZADO			
26. Nome: Secretaria Municipal de Saúde de Flexeiras		29. Endereço (Rua, n.º): R. PROF FEUSBERTO SANTOS, 212 - CENTRO	
27. Unidade/Orgão:		30. CEP: 57.995.000	31. Cidade: Flexeiras
28. Participação Estrangeira: Sim () Não (X)		33. Fone:	34. Fax:
35. Projeto Multicêntrico: Sim () Não (X) Nacional () Internacional () (Anexar a lista de todos os Centros Participantes no Brasil)			
Termo de Compromisso (do responsável pela instituição): Declaro que conheço e cumprirei os requisitos da Res. CNS 196/96 e suas Complementares e como esta instituição tem condições para o desenvolvimento deste projeto, autorizo sua execução Nome: Marco Antônio Cavalcante da Costa Cargo: Secretário de Saúde de Flexeiras - AL Data: 09/12/2004			
PATROCINADOR			
36. Nome: 39. Endereço: Não se aplica (X) Secretário de Saúde Flexeiras - Alagoas			
37. Responsável:		40. CEP:	41. Cidade:
38. Cargo/Função:		43. Fone:	44. Fax:
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA - CEP			
45. Data de Entrada: 10/12/04	46. Registro no CEP: 013229/2004-11	47. Conclusão: Aprovado (X) Data: 24/02/2005	48. Não Aprovado () Data: / /
49. Relatório(s) do Pesquisador responsável previsto(s) para: a cada 3 meses Data: 24/10/05 FE Data: 24/10/05			
Encaminho a CONEP: 50. Os dados acima para registro () 51. O projeto para apreciação () 52. Data: / /		53. Coordenador/Nome: Assinatura: Geraldo M. de F. da Comissão de Ética em Pesquisa - CONEP - AL Anexar o parecer substanciado	
COMISSÃO NACIONAL DE ÉTICA EM PESQUISA - CONEP			
54. Nº Expediente:	56. Data Recebimento:	57. Registro na CONEP:	
55. Processo:			
58. Observações:			

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (T.C.L.E.) **Apêndice 4**
(Em 2 vias, firmado por cada participante-voluntári(o,a) da pesquisa e pelo responsável)

“O respeito devido à dignidade humana exige que toda pesquisa se processe após consentimento livre e esclarecido dos sujeitos, indivíduos ou grupos que por si e/ou por seus representantes legais manifestem a sua anuência à participação na pesquisa.” (Resolução. nº 196/96-IV, do Conselho Nacional de Saúde)

Eu,, tendo sido convidado(o,a) a participar como voluntári(o,a) do estudo Hábitos Alimentares e Estado Nutricional de Hipertensos e Diabéticos. Uma Contribuição às ações de Controle de Fatores de Risco Cardiovascular do HIPERDIA – MS do Município de Flexeiras - AL, recebi da Profa Ms Sandra Mary Lima Vasconcelos, do Departamento de Nutrição da Universidade Federal de Alagoas, responsável por sua execução, as seguintes informações que me fizeram entender sem dificuldades e sem dúvidas os seguintes aspectos:

- Que o estudo se destina a avaliar a alimentação e o estado nutricional de pessoas que tem pressão alta e diabetes (açúcar no sangue).
- Que a importância deste estudo é a identificar fatores de risco na alimentação e nos hábitos de vida (fumar, não fazer atividade física como caminhada, etc) de hipertensos e diabéticos do município de Flexeiras para orientar as ações do programa de controle da hipertensão e do diabetes – HIPERDIA, realizadas pelas equipes do Programa de Saúde da Família – PSF do município de Flexeiras – AL.
- Que os resultados que se desejam alcançar são os seguintes: controlar fatores de risco cardiovascular através de ações de educação em saúde voltadas para mudanças no estilo de vida.
- Que esse estudo começará em janeiro de 2005 e terminará em dezembro de 2006.
- Que o estudo será feito da seguinte maneira: (1) entrevista para saber dos hábitos alimentares e de vida, medidas do corpo (peso, altura, etc.) e coleta de sangue para medir açúcar e gordura no sangue com material descartável feito por técnicos do laboratório de análises clínicas de Flexeiras - AL; (2) análise dos dados e divulgação dos resultados; (3) orientações através de consultas e palestras educativas para modificar os fatores de risco observados (fumar, comer muito sal e comer muita gordura, por exemplo)
- Que eu participarei das seguintes etapas: (1) coleta de dados, ou seja quando eu responder as perguntas, quando for pesado(a), quando for “tirar sangue” (2) atividades de intervenção, ou seja quando os resultados serão utilizados para dar orientação de saúde. Por exemplo se eu estiver comendo muito sal receberei orientação de como diminuir o sal na minha comida.
- Que não existem outros meios conhecidos para se obter os mesmos resultados
- Que os incômodos que poderei sentir com a minha participação são os seguintes: dor ou desconforto na hora de retirar o sangue, coletado por técnicos do laboratório de Flexeiras-AL.
- Que a participação no estudo não trará nenhum risco à minha saúde física e mental. Participando do estudo terei uma avaliação da minha saúde.
- Que deverei contar com a seguinte assistência: médica, de enfermagem, de nutrição e social sendo responsáveis por ela: a equipe do PSF (médico, enfermeira, auxiliar de enfermagem e agentes de saúde) da área onde eu moro, bem como os participantes desta pesquisa (enfermeira, assistente social, nutricionista e estudantes de nutrição e biomedicina e técnicos de laboratório).
- Que os benefícios que deverei esperar com a minha participação: conhecer os fatores de risco que podem piorar minha pressão alta e/ou o meu diabetes e poder receber orientação para modifica-los
- Que a minha participação será acompanhada do seguinte modo: através de reuniões com a participação da equipe do PSF e se necessário através de visitas domiciliares
- Que, sempre que desejar serão fornecidos esclarecimentos sobre cada uma das etapas do estudo.
- Que, a qualquer momento, eu poderei recusar a continuar participando do estudo e, também, que eu poderei retirar este meu consentimento, sem que isso me traga qualquer penalidade ou prejuízo.

Apêndice 4

▪ Que as informações conseguidas através da minha participação não permitirão a identificação da minha pessoa, exceto aos responsáveis pelo estudo, e que a divulgação das mencionadas informações só será feita entre os profissionais estudiosos do assunto.

▪ Que eu deverei ser indenizado por qualquer despesa que venha a ter com a minha participação nesse estudo e, também, por todos os danos que venha a sofrer pela mesma razão, sendo que, para essas despesas, foi-me garantida a existência de recursos.

Finalmente, tendo eu compreendido perfeitamente tudo o que me foi informado sobre a minha participação no mencionado estudo e estando consciente dos meus direitos, das minhas responsabilidades, dos riscos e dos benefícios que a minha participação implicam, concordo em dele participar e para isso eu DOU O MEU CONSENTIMENTO SEM QUE PARA ISSO EU TENHA SIDO FORÇADO OU OBRIGADO.

Endereço d(o,a) participante-voluntári(o,a)

Domicílio: (rua, praça, conjunto):

Bloco: /Nº: /Complemento:

Bairro: /CEP/Cidade: /Telefone:

Ponto de referência:

Contato de urgência: Sr(a).

Domicílio: (rua, praça, conjunto):

Bloco: /Nº: /Complemento:

Bairro: /CEP/Cidade: /Telefone:

Ponto de referência:

Endereço do responsável, pela pesquisa (OBRIGATÓRIO):

Instituição: Universidade Federal de Alagoas - UFAL, Centro de Ciências da Saúde - CSAU, Departamento de Nutrição.

Endereço: Campus A.C. Simões, Cidade Universitária, Br 104 norte, Km 97

Bairro: /CEP/Cidade: Tabuleiro do Martins, 57072-970 Maceió – AL.

Telefones p/contato: 214 1158/1160

ATENÇÃO: Para informar ocorrências irregulares ou danosas durante a sua participação no estudo, dirija-se ao:

Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Alagoas:

Prédio da Reitoria, sala do C.O.C. , Campus A. C. Simões, Cidade Universitária

Telefone: 214-1053

Flexeiras,

(Assinatura ou impressão datiloscópica d(o,a) voluntári(o,a) ou responsável legal - Rubricar as demais folhas)	Nome e Assinatura do(s) responsável(eis) pelo estudo (Rubricar as demais páginas)



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA**

Maceió – AL, 20 / 05 / 2005

Senhor (a) Pesquisador (a),

O Comitê de Ética em Pesquisa (CEP), reunido em 04 / 11 / 2004 e com base no parecer emitido pelo (a) relator (a) do processo nº 009991/2004-79 sob o título Estado Antecipante de Portadores de Hepatização Arterial Primária: Uma Avaliação segundo Técnicas Bioquímicas, Espectroscópicas, Citomicrográficas e Eletrográficas.

de sua autoria, vem por meio deste instrumento comunicar sua **aprovação** com base no item VIII.13, b, da Resolução nº 196/96.

Outrossim, recomendamos a observância do que consta na folha de rosto com respeito ao cumprimento dos prazos para entrega de relatórios, bem como o atendimento da referida Resolução, sobretudo no que se refere aos itens III, IV e V, (proteção ao sujeito) e das demais Resoluções da CONEP /CNS, quando for o caso (*).

Na eventualidade, de esclarecimentos adicionais este Comitê coloca-se à disposição dos interessados para o acompanhamento da pesquisa em seus dilemas éticos e exigências contidas nas Resoluções supra referidas.

(*) *Áreas temáticas Especiais*





1. Projeto de Pesquisa: Estado Antioxidante de Portadores de Hipertensão Arterial Primária: Uma Avaliação Segundo Técnicas Cromatográficas, Espectrofotométricas e Eletroquímicas			
2. Área do Conhecimento (Ver relação no verso) Química		3. Código: 1.06	4. Nível: (Só áreas do conhecimento 4)
5. Área(s) Temática(s) Especial (s) (Ver fluxograma no verso)		6. Código(s):	7. Fase: (Só área temática 3) I () II () III () IV ()
8. Unitermos: (3 opções) Antioxidantes, Hipertensão arterial, Electroanálise.			
SUJEITOS DA PESQUISA			
9. Número de sujeitos No Centro : Total: 150		10. Grupos Especiais : <18 anos () Portador de Deficiência Mental () Embrião /Feto () Relação de Dependência (Estudantes , Militares, Presidiários, etc) () Outros (X) Não se aplica () Adultos Hipertensos e Normotensos	
PESQUISADOR RESPONSÁVEL			
11. Nome: (1) Marília Oliveira Fonseca Goulart (2) Maria Alayde Mendonça da Silva			
12. Identidade: (1) M-114326-55116 (2) 28874080		13. CPF (1) 141766304-72 (2) 07387156768	
14. Nacionalidade: Brasileira		15. Profissão: (1) Farmacêutica (2) Cardiologista	
16. Maior Titulação: (1) Pós- doutorado (2) Doutorado		17. Cargo Professora Pesquisadora (1) Prof. Adjunta IV (2) Prof. Adjunta IV	
18. Instituição a que pertencem: Universidade Federal de Alagoas		19. Endereço (Rua, n.º): (1) R. Eurico Azeite Vandenlei 119, Farol, Maceió, AL (2) R. Tanis do guberno 1081/404/20 de Verde	
		20. CEP: (1) 57052-090 (2) 57035000	
		21. Cidade: Maceió	
		22. U.F. Alagoas	
		23. Fone: (1) 2416526 (2) 377 1051	
		24. Fax (1) 2416526 (2) 377 1051	
		25. Email: mofg@qui.ufal.br malayde1@uol.com.br	
<p>Termo de Compromisso: Declaro que conheço e cumprirei os requisitos da Res. CNS 196/96 e suas complementares. Comprometo-me a utilizar os materiais e dados coletados exclusivamente para os fins previstos no protocolo e a publicar os resultados somente de forma favorável ou não. Aceito as responsabilidades pela condução científica do projeto acima.</p> <p>Data: 05/10/2004</p> <p style="text-align: right;"> Assinatura </p>			
INSTITUIÇÃO ONDE SERÁ REALIZADO			
26. Nome: Universidade Federal de Alagoas		29. Endereço (Rua, n.º): Depto. Química do CCEN - Cidade Universitária - Tab. do Martins	
27. Unidade/Orgão: Departamento de Química do CCEN		30. CEP: 57072-970	
28. Participação Estrangeira: Sim () Não (X)		31. Cidade: Maceió	
		32. U.F. Alagoas	
33. Fone: 2141339		34. Fax.: 2141339	
35. Projeto Multicêntrico: Sim () Não (X) Nacional (X) Internacional () (Anexar a lista de todos os Centros Participantes no Brasil)			
<p>Termo de Compromisso (do responsável pela instituição): Declaro que conheço e cumprirei os requisitos da Res. CNS 196/96 e suas Complementares e como esta instituição tem condições para o desenvolvimento deste projeto, autorizo sua execução</p> <p>Nome: MARIAM ALVES PEREIRA</p> <p>Data: 05/10/2004</p> <p style="text-align: right;"> Cargo: CHEFE DO DEPARTAMENTO Prof. Marianne Alves Pereira X/ Chefe do Departamento de Química Assinatura: Assinatura: GFN-UFAI </p>			
PATROCINADOR			
36. Nome: CNPq/ CAPES/ FAPESP/ HU-UFAL			
37. Responsável:			
38. Cargo/Função:			
39. Endereço:			
40. CEP:		41. Cidade:	
42. UF:		43. Fone:	
44. Fax:		45. Data de Entrada:	
46. Registro no CEP:		47. Conclusão: Aprovado (X)	
48. Não Aprovado ()		49. Relatório(s) do Pesquisador responsável previsto(s) para:	
a cada 3 meses		Data: 04/11/04	
Data: 04/10/03		Data: 04/10/03	
Encaminhar a CONEP:		53. Coordenador/ Nome	
50. Os dados acima para registro () 51. O projeto para apreciação ()		Anexar o parecer consubstanciado	
52. Data: / /		 Assinatura: Assinatura:	
COMISSÃO NACIONAL DE ÉTICA EM PESQUISA - CONEP			
54. Nº Expediente :		56. Data Recebimento :	
55. Processo :		57. Registro na CONEP:	

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Pesquisa: Estado Antioxidante de Portadores de Hipertensão Arterial Primária: Uma Avaliação segundo Técnicas Bioquímicas, Cromatográficas, Espectrofotométricas e Eletroanalíticas.

Tese de Doutorado Profa Sandra Mary Lima Vasconcelos – Depto Nutrição / UFAL, Serviço de Cardiologia HU/UFAL, Dda CPGQB-UFAL

Orientador: Profa Dra Marília Oliveira Fonseca Goulart – Depto Química. Lab Eletroquímica / UFAL

Co-Orientador: Profa Dra Maria Alayde Mendonça da Silva (Depto Clínica Médica / UFAL, Serviço de Cardiologia HU/UFAL);

Colaboradores: Profa Dra Mara da Silveira Benfato (Depto Biofísica Lab Estresse Oxidativo / UFRGS); Prof Dr Lauro Tatsuo Kubota (Depto Química / UNICAMP)

CARTA DE INFORMAÇÃO AO PACIENTE E TERMO DE COMPROMISSO

I - Pessoas com pressão alta podem ter maior quantidade de radicais livres. Radicais livres são substâncias que prejudicam a saúde. Esta pesquisa procura avaliar a presença de antioxidantes que protegem as pessoas dos radicais livres, no sangue de quem tem pressão alta e de quem não tem pressão alta.

II – Para que a pesquisa aconteça, será necessário examinar os pacientes em consultas com cardiologista e nutricionista no ambulatório do HU/ UFAL: exame clínico (história familiar, social, dietética, etc); exame físico (medida da pressão, peso, altura, exame de fundo do olho, etc); exames de sangue e urina; eletrocardiograma.

III – Todos os dados coletados serão registrados no prontuário do paciente arquivado no HU/UFAL, e o paciente tem livre e total acesso ao mesmo.

IV – As amostras de sangue, coletadas no laboratório do HU/UFAL serão conservadas adequadamente e enviadas para o Rio Grande do Sul e para o laboratório de eletroquímica da UFAL para quantificar os antioxidantes. Os resultados serão enviados de volta para o HU/UFAL e arquivados nos prontuários dos pacientes examinados.

V – Todos os pacientes terão garantia de que suas perguntas serão respondidas e suas dúvidas esclarecidas durante o desenvolvimento da pesquisa e terão acesso total aos resultados.

VI – Todos os pacientes terão o direito de se recusar a participar ou retirar o seu consentimento em qualquer fase da pesquisa, sem penalização alguma ou prejuízo ao seu cuidado.

VII – O desenvolvimento da pesquisa e os resultados encontrados serão conhecidos através de publicação dos seus dados em congressos, revistas e similares, ficando garantido o sigilo no que diz respeito à identificação e às informações confidenciais dos pacientes.

VIII – Os hipertensos, após a avaliação clínica e de exames laboratoriais, receberão orientação nutricional e prescrição medicamentosa (esta, quando necessária), segundo as orientações da Sociedade Brasileira de Cardiologia para o tratamento da HAS.

IX – Os pesquisadores responsáveis e seus endereços são os seguintes:

Marília Oliveira Fonseca Goulart - Laboratório de Eletroquímica - Departamento de Química – Universidade Federal de Alagoas. Fone: 214.1389.

Maria Alayde Mendonça da Silva - Serviço de Cardiologia – Hospital Universitário da Universidade Federal de Alagoas. Fone: 322.2344 ramal 2102.


Sandra Mary Lima Vasconcelos - Laboratório de Eletroquímica - Departamento de Química – Universidade Federal de Alagoas. Fone: 214.1389 OU Serviço de Cardiologia – Hospital Universitário da Universidade Federal de Alagoas. Fone: 322.2344 ramal 2102.

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Após tomar conhecimento do que está escrito na carta de informação sobre os procedimentos da pesquisa: Estado Antioxidante de Portadores de Hipertensão Arterial Primária: Uma Avaliação segundo Técnicas Bioquímicas, Cromatográficas, Espectrofotométricas e Eletroanalíticas, eu _____

declaro que aceito participar do estudo.

Maceió _____ de _____ de 200__



ESTADO ANTIOXIDANTE DE PORTADORES DE HIPERTENSÃO ARTERIAL PRIMÁRIA: UMA AVALIAÇÃO SEGUNDO TÉCNICAS BIOQUÍMICAS, CROMATOGRÁFICAS ESPECTROFOTOMÉTRICAS E ELETROANALÍTICAS
Pesquisa de Doutorado

Curso de Pós-graduação em Química e Biotecnologia - CPQNB
Depto Química. Universidade Federal de Alagoas - UFAL.

AUTORA: Doutoranda Sandra Mary Lima Vasconcelos
ORIENTADORA: Profa Dra Marília Oliveira Fonseca Goulart
CO-ORIENTADORA: Profa Dra Maria Alayde Mendonça da Silva


COLABORADORES:
Profa Dra Mara da Silva Benfato e Dda Vanusa Manfredini (UFRGS);
Prof Dr Lauro Tatsuo Kubota (UNICAMP)
Aline Fidélis, Alane Cabral, Antônio Albuquerque (Lab EQ-UFAL)
Dra Eliana Wanderley Santa Rita e Dr José Benedito de França Moura (Lab HU/UFAL)
HEMOAL
SMS-Flexeiras-AL

Curso de Pós-graduação em Química e Biotecnologia - CPQNB
Depto Química. Universidade Federal de Alagoas - UFAL.

O que é pesquisa?



O que é estresse oxidativo?



O que não protege
(Radicais livres)

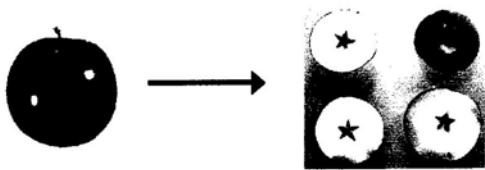
O que protege

O que são ?

RADICAIS LIVRES



Por que as maçãs se tornam escuras?



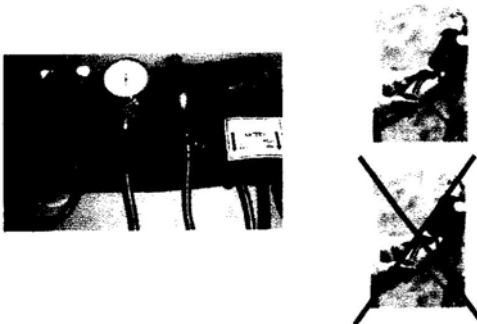
Por que os metais enferrujam?



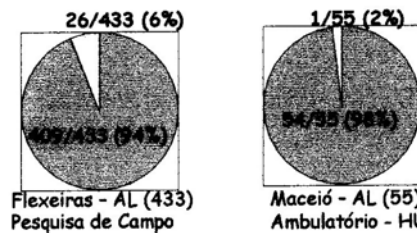
Por que envelhecemos?



HAS e estresse oxidativo



Triagem dos participantes da pesquisa



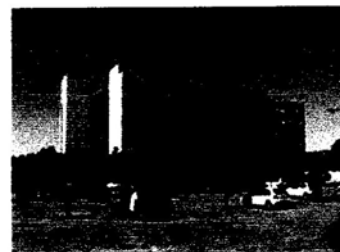
Outros: 2 Flexeiras e 9 Maceió.
TOTAL PARCIAL (1 grupo)= 38 participantes

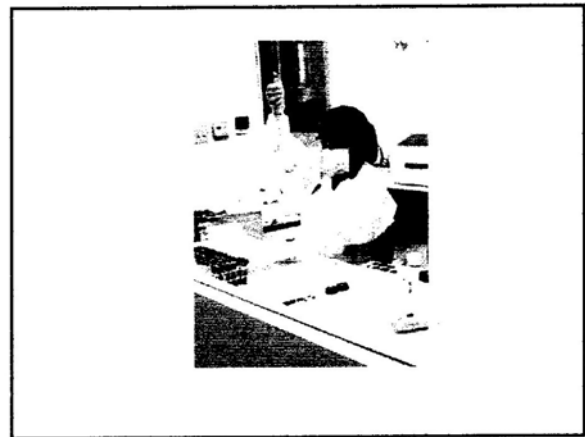
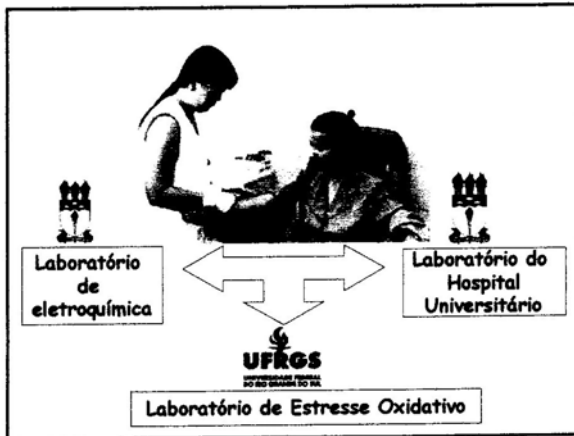
O que será pesquisado?

ESTADO NUTRICIONAL
(antropometria, bioimpedância e dieta)

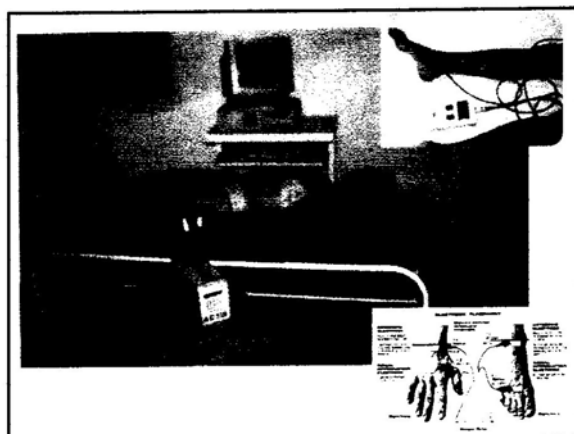
SANGUE
(marcadores de estresse oxidativo e antioxidantes)

Como será feita a pesquisa ?





O exame de bioimpedância



Protocolo

O Exame

- Fixação de eletrodos emissores (fonte) e sensores dispostos unilateralmente no lado dominante
- Jejum de 2 a 4 horas
- Paciente em decúbito dorsal, braços e pernas afastados do corpo
- Desengordurar pontos de localização dos eletrodos

O Preparo (na véspera)

- Tomar 8 copos de água (~2 L) na véspera do exame
- Não fazer exercícios vigorosos
- Não tomar bebidas alcoólicas
- Não tomar café
- Suspender diuréticos (HCT p. ex.)

O exame de sangue

Preparo durante 4 semanas

- Não tomar Paracetamol (tylenol)
- Não tomar remédios do tipo vitaminas, fortificantes, sulfato ferroso, etc
- Manter a alimentação habitual
- Suspender bebidas alcoólicas

Preparo na véspera da coleta de sangue

- Jejum de 12 a 14 horas
- Evitar exercícios físicos vigorosos
- Manter dieta habitual

O inquérito dietético

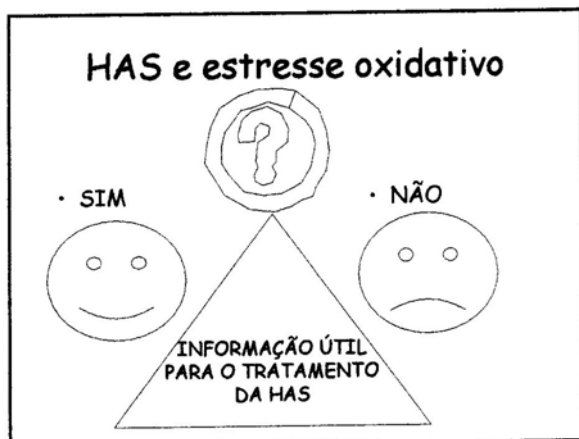


Entrevista e avaliação do inquérito dietético



O que vamos encontrar?







UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E NATURAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA E BIOTECNOLOGIA – PPGQB

Análise do estado antioxidante em sangue. Pesquisa para tese de doutorado:
“Análise de biomarcadores de estado redox em portadores de hipertensão arterial primária: uma avaliação segundo técnicas bioquímicas, cromatográficas e espectrofotométricas”

Nome: XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX Cód: A4
Sexo: M F Data Nascimento: _____ Idade: _____
Período e Local da Análise: jun a out/ 2005. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Depto de Biofísica. Laboratório de Estresse Oxidativo.

Enzimas Antioxidantes (em eritrócitos):

SOD (Superóxido Desmutase) 820 U/gHb (VR: 1102 a 1601 U/g/Hb)

GPx (Glutathione Peroxidase) 21,78 U/gHb (VsR: 30 - 44 , 86 - 165 e 86 - 165 U/g/Hb)

CAT (Catalase) 37,88 K U/gHb (VsR: 130 - 192 e 19 - 292 KU/g/Hb)

Antioxidante não enzimático (em eritrócito):

GLUTATIONA 3,99 mM (VR: 1 - 11mM)

Marcadores de dano Oxidativo :

MDA – Malondialdeído (em soro) 1,54 uM (VsR: 2 - 3 e 1- 2 Mmol/L)

Presença de grupos carbonil em proteínas (em plasma) 4,61 (VsR: 0,4 - 1 e 1 nmol/ptna)

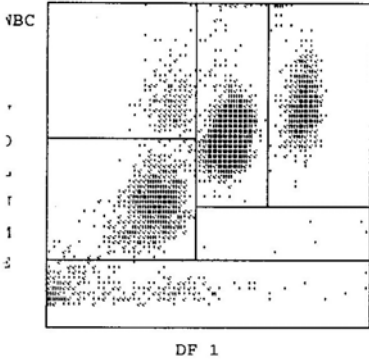
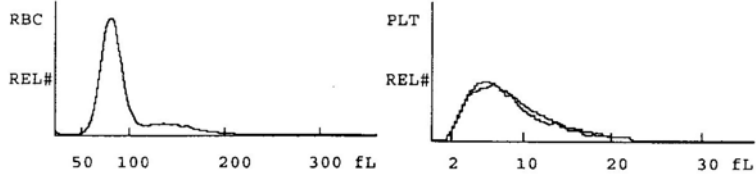
IMPORTANTE: Estes resultados não devem e nem podem ser utilizados para diagnóstico e estão restritos à pesquisa supracitada. Não autorizamos o seu uso para outros fins.


Profª Sandra Mary L. Vasconcelos (Doutoranda)

Profª Marília O. F. Goulart (Orientadora), Profª Ma Alayde Mendonça (Co-orientadora).

Maceió, AL. 23/03/2006.

A4



XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX

BC+Diff S Cass/pos 000069

DATE: 10/05/05 TIME: 10:57:37

Reg: S/R 69

Sequencia: 000069
Data e Hora: 10/05/05 10:17
Idade: 24.11.69

Clinica: AMB
Nome: MARIA JOSETE

Sexo F

Comentario

Abnormal WBC Pop			Normal RBC Pop			Normal PLT Pop		
BC	10.6	H 10 ³ /uL	RBC	4.71	10 ⁶ /uL	PLT	318	10 ³ /uL
E	55.6	%	HGB	13.8	g/dL	PCT	0.281	%
Y	21.5	%	HCT	41.2	%	MPV	8.8	fL
J	4.7	%	MCV	87.4	fL	PDW	17.3	H (ratio)
O	18.0	H %	MCH	29.3	pg			
A	0.2	%	MCHC	33.5	g/dL			
E	5.9	10 ³ /uL	RDW	13.1	%			
Y	2.3	10 ³ /uL						
O	0.5	10 ³ /uL	RET%		%			
O	1.9	H 10 ³ /uL	RET#		10 ⁶ /uL			
A	0.0	10 ³ /uL						

SUSPECT FLAGS:

DEFINITIVE FLAGS:

Leukocytosis
Eosinophilia %
Eosinophilia #

Apêndice 8

UFAL - HOSPITAL UNIVERSITARIO
LABORATORIO DE ANALISES CLINICAS
DATA: Fri May 13 12:41:48 2005

Cliente : A4
Registro Geral: PROJETO
Teste Numero:
Procedencia: Material: SERUM
Prioridade: ROUTINE Entrada: 12:17 May 13 2005
Rotor: B Posicao: TIBC: 4

TESTES EXECUTADOS	RESULTADOS	V.REFERENCIAS	UNIDADES
TIBC CAPACIDADE TOTAL LIG. FERRO	268.4	250.0-450.0	ug/dL

$$TSF = (0,8 \times 268,4) - 43$$

$$TSF = 171,72 \mu\text{g/dL} \quad (\text{VR } 200 \text{ a } 360 \text{ mg/dL})$$

$$\text{Ceruloplasmina: } 54 \text{ mg/dL} \quad (\text{VR } 15 \text{ a } 60 \text{ mg/dL})$$

Exame de XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX

Dados informados:

Data do exame: 11/11/2005 Altura: 151,0 cm Resistência: 595 ohm
 Sexo: Feminino Peso: 57,3 Kg Reatância: 57 ohm
 Idade: 36 anos Nível de Atividade Física: Leve

Dados calculados:

	Peso atual	Porcentagem atual	Porcentagem ideal
Água corporal	29,0 Kg	51 %	de 50 % a 60 %
Massa magra	39,6 Kg	69 %	de 73 % a 79 %
Gordura corporal	17,7 Kg	31 %	de 21 % a 27 %

	Valor atual	Valor ideal
Peso	57,3 Kg	51 Kg a 55 Kg
Peso em gordura	17,7 Kg	13 Kg
Peso em massa magra	39,6 Kg	40 Kg
Relação massa magra gordura	2,2 : 1	2,7 : 1 ou maior

Gasto Energético Basal: 1225 calorias Dieta Recomendada: 1200 calorias
 Índice de Massa Corporal: 25,0 Kg/m² Massa Celular: 15,9 Kg

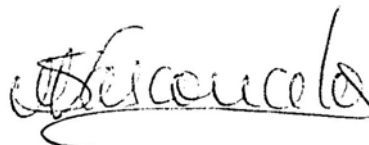
Conclusões:

Redução de peso de 3 Kg a 6 Kg
 Taxa de perda de peso: 0,26 Kg / semana, com ingestão de uma dieta de 1200 Kcal e nível de atividade atual.
 O ideal seria perder 5 Kg de gordura e manter, ou mesmo aumentar, a sua massa magra, com a realização de exercícios físicos adequados.

Recomendações:

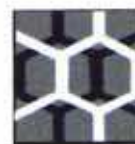
- 1 -) Exercícios físicos
- 2 -) Dieta de 1200 calorias por 18 semanas

O peso meta é calculado baseado na sua composição corporal, principalmente massa magra. Em programação de ganho ou perda de peso, periodicamente, deve-se repetir o exame para reavaliação da composição corporal, podendo ocorrer adequação do peso meta.



Sandra Mary Lima Vasconcelos
 Nutricionista - Prof.ª Nut. Clínica
 CRN 1140 - CIC 332.572.294-15

11/11/2005



UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E NATURAIS
INSTITUTO DE QUÍMICA - IQ
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA E BIOTECNOLOGIA – PPGQB

CONVITE

Reunião para apresentação dos resultados da pesquisa *“Análise de biomarcadores de estado redox em portadores de hipertensão arterial primária: uma avaliação segundo técnicas bioquímicas, cromatográficas e espectrofotométricas”*, realizada com voluntários do município de Flexeiras e de Maceió.

Local, Auditório do Hospital Universitário - UFAL

Data: 23/03/2006, (5ª feira)

Hora: 08:00 H

Programação

- 08:00 H: Recepção, entrega dos resultados dos exames aos voluntários
- 08:15 H: Abertura
Profª. Marília Oliveira Fonseca Goulart: Orientadora/PPGQB/IQ/UFAL
Instituto de Química – UFAL
Profª. Mª Alayde Mendonça da Silva: Co-orientadora/PPGQB/IQ/UFAL
Faculdade de Medicina - UFAL
- 08:30 H: Apresentação dos resultados da pesquisa
Profª. Sandra Mary Lima Vasconcelos: Doutoranda/PPGQB/UFAL.
Faculdade de Nutrição - UFAL
- 09:15 H: Discussão
- 10:00 H: Apresentação do Ballet Folclórico de Flexeiras:Coreografado por Casinho,
Coordenador do Ballet e estudante de Teatro da UFAL
- 10:40 H: Encerramento e Lanche de Confraternização.


 UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS - UFAL
 CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E NATURAIS
 INSTITUTO DE QUÍMICA E BIOTECNOLOGIA
 PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA E BIOTECNOLOGIA - PPGQB
 LABORATÓRIO DE ELETROQUÍMICA


Análise de Biomarcadores de Estado Redox em Portadores de Hipertensão Arterial Primária: Uma Avaliação Segundo Técnicas Bioquímicas, Cromatográficas e Espectrofotométricas

Sandra Mary Lima Vasconcelos


Orientadora: Profa Dra Marília Oliveira Fonseca Goulart
 Co-orientadora: Profa Dra Maria Alayde Mendonça da Silva

Maceió - AL, Março/2006

O que é pesquisa?



O que é estresse oxidativo?



O que protege

O que não protege (Radicais livres)

O que são ?

RADICAIS LIVRES



Por que as maçãs se tornam escuras?



Por que os metais enferrujam?



Por que envelhecemos?



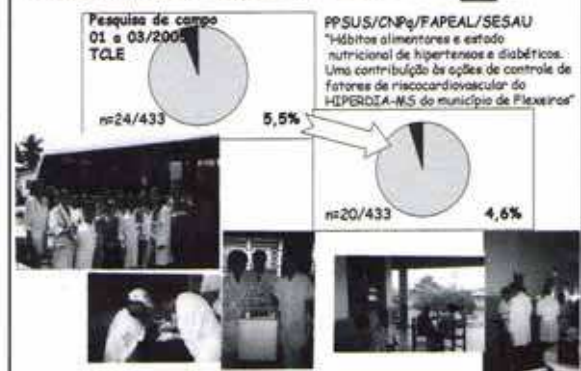
HAS e estresse oxidativo



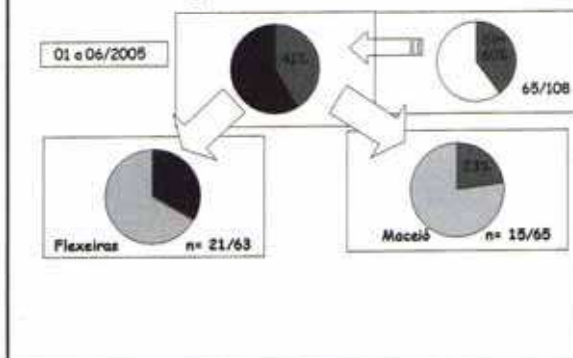
Como foi feita a pesquisa?

Flexeiras - AL
Maceió - AL

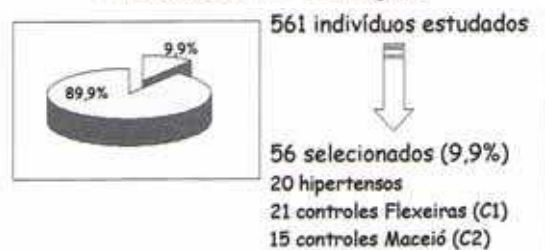
Seleção dos hipertensos



Seleção dos controles



Processo de seleção



Avaliação clínica, bioquímica e antropométrica

Aspectos éticos

- ✓ Aprovação CEPE-UFAL
- ✓ TCLE
- ✓ Apresentação do projeto para os voluntários
- ✓ Resultados dos exames
- ✓ Apresentação dos resultados para os voluntários e colaboradores



O que foi pesquisado?

ESTADO NUTRICIONAL E DIETA
(antropometria, bioimpedância e ID)

ESTADO REDOX
(marcadores de estresse oxidativo e antioxidantes em sangue)

Antropometria



Preparo na véspera:

Tomar 2L água, não fazer exercício físicos vigorosos, suspender café e diurético

Exame de BIA



Entrevista e avaliação do inquérito dietético



O exame de sangue

4 semanas antes

- Não tomar Paracetamol (tylenol)
- Não tomar remédios do tipo vitaminas, fortificantes, sulfato ferroso, etc
- Manter a alimentação habitual
- Suspender bebidas alcoólicas

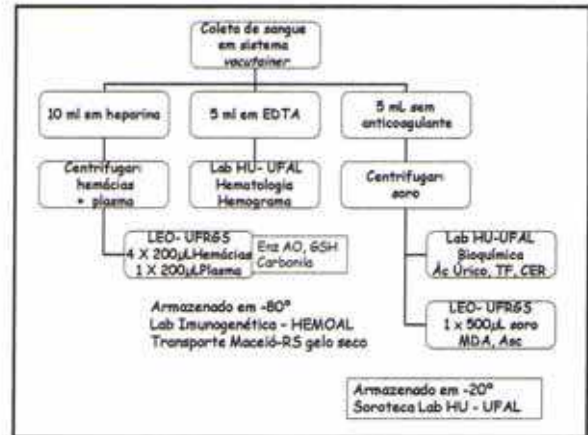
Na véspera

- Jejum de 12 a 14 horas
- Evitar exercícios físicos vigorosos
- Manter dieta habitual

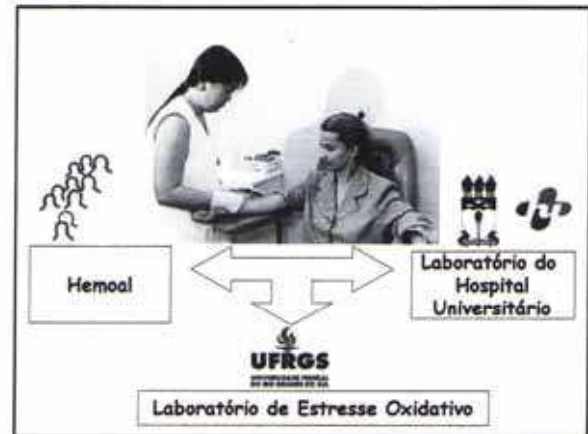
Avaliação laboratorial

HU/UFAL: 05,07,08 e 10/2005

LEO/UFRGS: 05, 06 e 09/2005



A coleta de sangue






Experimental TRF, CER, Ác Úrico

Experimental (GPx, CAT)

UFRGS
UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

Experimental (GSH)

UFRGS
UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

Experimental (SOD e Carbonila)





UFRGS
UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

Experimental (Asc e MDA)






O que encontramos?



Caracterização dos grupos estudados

Variáveis	Grupos de pacientes		
	Hipertensos (H)	Controle 1 (C1)	Controle 2 (C2)
Idade (anos)	49,95 ± 6,99	45,85 ± 6,31	44,2 ± 5,87
Sexo (Feminino:F / Masculino:M)	14/20 (70%) F / 6/20 (30%) M	15/21 (71,4%)F / 6/21 (28,6%) M	12/15 (80%) F / 3/15 (20%) M
IMC (Kg/m ²)	26 ± 2,45	26 ± 2,94	23 ± 2,50
Colesterol sérico (mg/dL)	170,85 ± 13,20	151,01 ± 23,66	150 ± 36,76
Glicemia (mg/dL)	86 ± 10,14	81 ± 10,95	80 ± 15,2

Caracterização dos grupos estudados

	Grupos de pacientes		
	Hipertensos n=20	Controle 1 n=21	Controle 2 n=14
CC (cm) Homens	94,5 ± 10,1	96,2 ± 4,8	86 ± 9,5
CC (cm) Mulheres	88,6 ± 6,6	90,4 ± 8	79 ± 4
Adipos Anóride	n=7/20 (38%)	n=8/21 (35%)	n=0/14 (0%)



Caracterização dos grupos estudados



Músculo/BIA

Gordura/BIA

Água/BIA


O inquérito dietético




Caracterização dos grupos estudados

Ingestão de Nutrientes	Grupos de pacientes		
	Hipertensos (H) n=20/20 (100%)	Controle 1 (C1) n=17/21 (81%)	Controle 2 (C2) n=13/15 (87%)
Calorias (Kcal/dia)	1534,04 ± 441,58	2201,64 ± 1063,89	1731,73 ± 581,31
Carboidratos (g/dia)	229,04 ± 64,55	328,58 ± 149,05	242,27 ± 90,77
Proteínas (g/dia)	67,67 ± 26,76	102,14 ± 59,96	80,35 ± 24,79
Lípidios (g/dia)	48,61 ± 18,30	58,22 ± 32,81	50,65 ± 19,74
Vitamina C (mg/dia)	77 ± 41,68	155,6 ± 162,67	200 ± 138,97

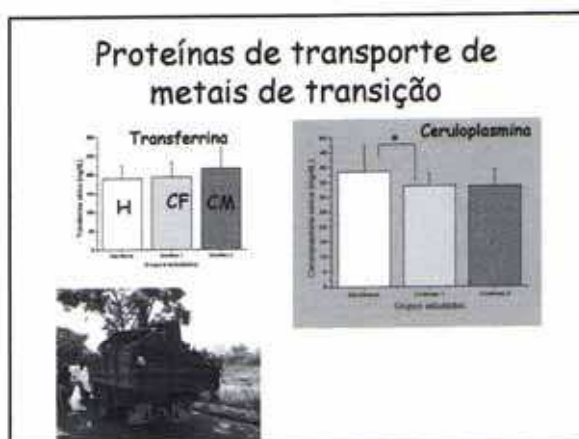
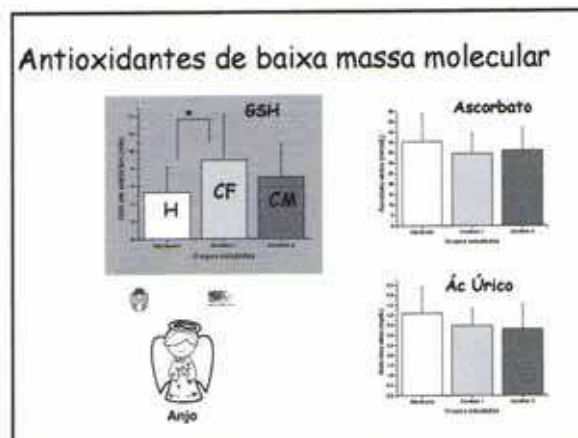
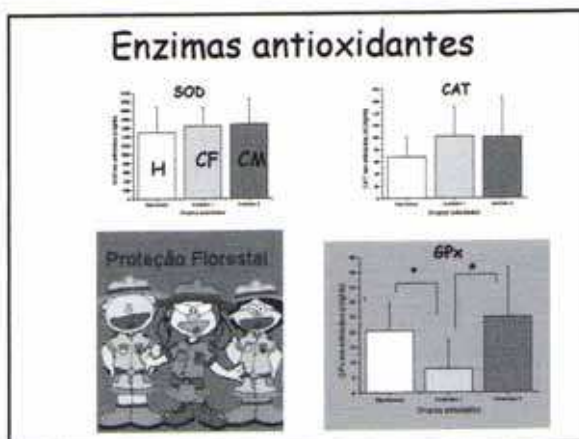
Caracterização dos hipertensos segundo terapia medicamentosa anti-hipertensiva



PAS 139,28 ± 11,41 mm Hg
PAD 95 ± 9,40 mm Hg

Medicamento e posologia	Numero de pacientes e %
Hidroclorotiazida - HCT, 25 mg	6 (30%)
Captopril 25 mg	3 (15%)
Captopril 50 mg	2 (10%)
HCT 25mg + Captopril 25mg	4 (20%)
HCT 50mg + Captopril 50mg	2 (10%)
HCT 25mg + Captopril 25mg + Propranolol 40 mg	1 (5%)
Sem medicação	2 (10%)
Total de pacientes	20 (100%)





Perspectivas

Que frutos este trabalho deixou?



Dá de ti

DÁ DE TI | QUANTO PUDERES:
O talento, a energia, o coração...
Dá de ti para os homens e as mulheres
Como as árvores e as fontes dão...
Não somente o sapato que não queres
E a capa que não usas no verão,
Darás sem refletir, sem ser notado,
De modo que ninguém diga: obrigado
Nem te deva dinheiro ou gratidão

Se não com espanto, notarás um dia,
Que viveste fazendo economia,
De talento, energia e coração (Giuseppe Charone)



INQUÉRITO DIETÉTICO RECORDATÓRIO DE 24 HORAS

Nome: _____ Cod: ___ H () C () Data: __/__/__
 Sexo: ___ Data Nasc: __/__/__ Idade: _____ Entrevistador: _____

Refeição	Hora	Alimentos/ Preparações/ Ingredientes	Qt/ Medidas caseiras

ESTADO ANTIOXIDANTE DE PORTADORES DE HIPERTENSÃO ARTERIAL PRIMÁRIA: UMA AVALIAÇÃO SEGUNDO TÉCNICAS BIOQUÍMICAS, CROMATOGRÁFICAS ESPECTROFOTOMÉTRICAS E ELETROANALÍTICAS. *Pesquisa para tese de Doutorado*
Universidade Federal de Alagoas. Sandra Mary Lima Vasconcelos
(9991 6060, 342 2201, sandramary@uol.com.br)

Preparo para o exame de BIOIMPEDANCIA.

Na véspera:

- # Tomar 8 copos de água (2 Litros)
- # Não fazer exercícios vigorosos
- # Não tomar bebidas alcoólicas
- # Não tomar café (a bebida café)
- # Suspende diuréticos (HCT p. ex.)

Preparo para o exame de sangue para dosagem de antioxidantes e marcadores de ambiente redox.

4 semanas antes:

- # Não tomar Paracetamol (tylenol, etc)
- # Não tomar remédios do tipo vitaminas, fortificantes, sulfato ferroso, etc
- # Manter a alimentação habitual
- # Suspende bebidas alcoólicas

Na véspera:

- # Jejum de 12 a 14 horas
- # Evitar exercícios físicos vigorosos
- # Manter dieta habitual

Inquérito Dietético Recordatório de 24 h: Uma breve discussão metodológica

Sandra Mary Lima Vasconcelos
Depto NUT/UFAL
Maceió, dez/2004.

- "A complexidade da dieta humana representa um desafio para qualquer pessoa, que pretenda estudar sua relação com a doença"
(Willett, 1990, Lopez, 1995)
- "O registro e avaliação precisos da ingestão alimentar são os mais difíceis aspectos de abordagem nutricional"
(Crispim, 2003)

- "Conhecer exatamente a ingestão alimentar de indivíduos é sempre uma tarefa complexa pelas práticas alimentares estarem mergulhadas nas dimensões simbólicas da vida social, envolvidas nos mais diversos significados, desde o âmbito cultural até as experiências pessoais, conferindo a elas menos objetividade do que se espera ao abordá-las por meio de métodos de investigação sobre consumo alimentar" (Garcia, 2004)

Recordatório de 24 horas	
Vantagens	Inconvenientes
<ul style="list-style-type: none"> • Tempo de coleta é breve, em apenas um único contato com índices de respostas relativamente altos • Período de tempo pré-determinado • Poder quantificar a ingestão • Não modificar os padrões dietéticos do indivíduo 	<ul style="list-style-type: none"> • Depende totalmente da memória do entrevistado • Dificil calcular o tamanho das porções com precisão • Adequação da ingestão dietética não pode ser avaliada pela ingestão de 1 dia • Necessidade de entrevistadores bem treinados

Sub ou registro excessivo de alimentos
Não representativo da dieta usual
Imprecisão do tamanho da porção devido a erros de memória

Avaliação da performance do Inquérito Dietético

- **VALIDAÇÃO:** Garantia de que a informação medida reflete exatamente o que se pretende medir
- **REPRODUTIBILIDADE:** Capacidade que o método tem de reproduzir o mesmo resultado quando usado repetidamente nas mesmas circunstâncias

Boa reprodutibilidade / pobre validade
Boa validade não terá pobre reprodutibilidade

Possíveis fontes de erros que podem distorcer as informações sobre ingestão alimentar:

- A percepção do que se come
- A memória do entrevistado
- Os efeitos decorrentes da idade, sexo e ambiente da entrevista
- A própria coleta de dados
- Variação alimentar diária, a sazonalidade
- A habilidade do entrevistador e a disposição do entrevistado em colaborar

A memória

- A memória seletiva leva o sujeito a lembrar-se dos alimentos mais aceitos socialmente, ou a enfocar o consumo desejável e pode, com isso, subnotificar grandes quantidades ingeridas ou supernotificar as pequenas quantidades

A percepção

- Uma pessoa ao revelar o que come, pode manifestar uma idealização de sua alimentação

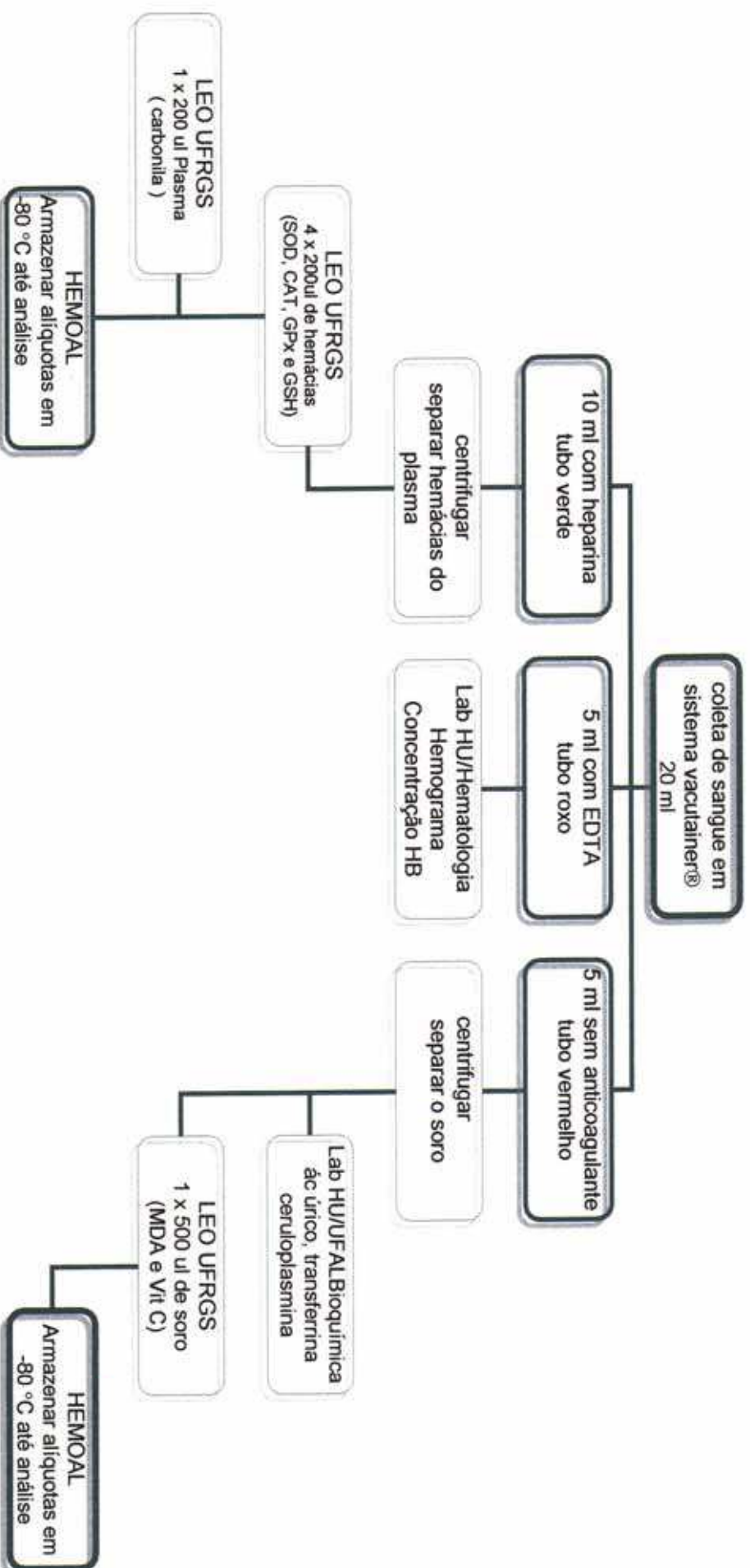
descompasso entre o que a pessoa acha que come e o que come, de modo a expressar um sentimento de pertencer ao padrão alimentar idealizado socialmente

Representações sobre o consumo alimentar e suas implicações em inquéritos dietéticos

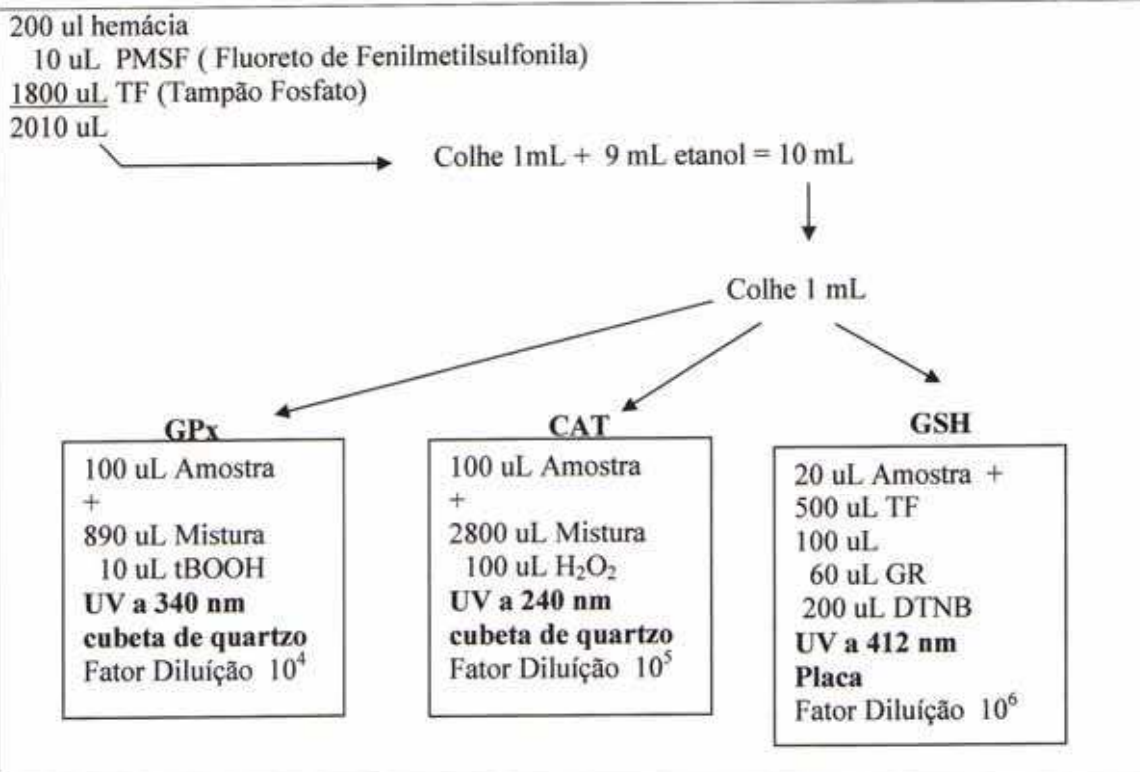
1. Indução do pesquisador em busca de quantidade e, a imprecisão do entrevistado
2. Flutuações nas representações sobre consumo alimentar pelo modo de consumo relacionado ao tipo de alimento
3. Representações sobre o consumo alimentar influenciados pelo entrevistador
4. Representações do consumo alimentar que manifestam flutuações e contradições

Garcia, 2004

Fluxograma da coleta armazenamento e distribuição das alíquotas de sangue



FLUXO DOS EXPERIMENTOS PARA MEDIR ATIVIDADE DE GLUTATIONA (GSH), GLUTATIONA PEROXIDASE (GPx) E CATALASE (CAT) EM ERITRÓCITOS



	Na planilha de cálculo/EXCEL			Calculo da ativ enzimática
	1ª coluna	2ª coluna	3ª coluna	
GPx	Valor em delta/min	Divide por 0,000622 ε NADPHx FD	Divide pela Hb(g)	Absortividade molar ^A de NADPH a 340 nm 6,22 X 10 ³ L mol ⁻¹ cm ⁻¹
CAT	Valor em delta/min X 10 (FC%)	Divide por 0,00394 ε H ₂ O ₂	Divide pela Hb(g)	Absortividade molar ^B de H ₂ O ₂ a 240 nm 0,00394mmol ⁻¹ mm ⁻¹
GSH	Abs Amostra – Abs Branco X 100	Divide por 0,0136 ε NTB	Divide pela Hb(g)	Absortividade molar ^C de NTB a 412 nm 13600M ⁻¹

^Asegundo Andersen et al, Clin Chem 1997 43:4 562-568

^Bsegundo Aebi H, Methods in Enzymol 1984 105: 121-126

^Csegundo Ikediobi et al, Int J Mol Med 2004 14:87-92

FD=fator diluição; FC= fator de correção de queda da atividade por diluição do hemolisado

FLUXO DO EXPERIMENTO PARA MEDIR ATIVIDADE DE SUPEROXIDO DISMUTASE (SOD) EM ERITRÓCITOS

200 µl hemácia

10 µL PMSF (Fluoreto de Fenilmetilsulfonila)

100 µL TF (Tampão Fosfato)

1000 µL de solução salina 0,9%

1310µL

→ Colhe 5 µL + 120 µL TF = 125 µL → Colhe 5 µL de cada paciente e coloca em cada pocinho da placa, aonde serão adicionados 170 µL do substrato misto

Placa para leitura de SOD em espectrofotômetro												
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A												
B												
C												
D												
E												
F												
G												
H												

Na planilha EXCEL, cálculos segundo procedimento descrito no Kit.

FLUXO DO EXPERIMENTO PARA MEDIR
CARBONILA EM PLASMA HUMANO

100 µl plasma

10 µL PMSF (Fluoreto de Fenilmetilsulfonila)

300 µL TCA (Ácido Tricloroacético)

410 µL centrifuga e despreza o sobrenadante, redissolve com **100µL** de NaOH, adiciona **1000 µL** de DNPH (Di-nitrofenil-hidrazina) para as amostras e **1000 µL** de HCl para os brancos, centrifuga, despreza o sobrenadante, redissolve em **300 µL** de TCA, coleta 5 µL da mistura e adiciona **1000 µL** de etanol: acetato de etila , centrifuga e despreza o sobrenadante, resuspende a amostra com **200 µL** de guanidina, dissolve o precipitado, no vortex, centrifuga e coleta 150µL do sobrenadante de cada paciente e coloca em cada pocinho da placa.

Placa para leitura de Carbonila em espectrofotômetro												
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A												
B												
C												
D												
E												
F												
G												
H												

Planilha de cálculo EXCEL				
	1ª coluna	2ª coluna	3ª coluna	4ª coluna
Carbonila	Abs Amostra – Abs Branco	Divide por 22000 (ε carbonila 22000 M ⁻¹ cm ⁻¹ a 360 nm)	Divide por 4000 Diluição da técnica	

Apêndice 17

Critérios de seleção dos pacientes: Grupo Estudo

	Nome	Data coleta	Data Nascimento	Idade set/05	Sexo	Peso	Alt	IMC	CC	DM	Fumo	Col	Glic	Obs
1	Maria José Pereira da Silva (A2)	10/05/05	09/06/1958	47	F	65,3	1,52	28,26	88	não	não	164	85	DH 334
2	Miriam Ferreira da Silva (A3)	10/05/05	21/06/1963	42	F	59,6	1,51	26,14	84	não	não	156	90	DH 414
3	Maria Josefe da Silva (A4)	10/05/05	24/11/1963	41	F	57,8	1,52	25,02	84	não	não	163	85	DH 337
4	Severina Marcionila da Conceição(A6)	10/05/05	05/07/1957	48	F	79,5	1,65	29,22	104	não	não	176	90	DH 320
5	Maria José da Conceição (A7)	10/05/05	19/03/1946	59	F	63,5	1,52	27,5	95	não	não	185	81	DH 315
6	Maria Edleuza dos Santos Pereira (A8)	10/05/05	15/06/1957	48	F	58,5	1,42	29,10	92	não	não	185	86	DH 319
7	José Ailton Rocha da Silva (B1)	10/05/05	17/02/1957	48	M	78,7	1,66	28,61	104	não	não	196	74	DH 396
8	José Henrique Lima (B2)	10/05/05	05/07/1948	57	M	84	1,68	29,78	104	não	não	172	80	PSF V
9	Norma Oliveira Alves(B3)	10/05/05	24/01/1946	59	F	60	1,51	26,4	77	não	não	184	89	DH 177
10	Valdo Venceslau (B4)	10/05/05	02/09/1965	40	M	72,5	1,63	27,35	100	não	não	159	85	DH 141
11	Cicera Maria da Silva (B5)	10/05/05	26/10/1963	41	F	53,3	1,47	24,67	86	não	não	154	99	DH 293
12	Josefa Aristeia da Conceição (B8)	10/05/05	24/12/1947	57	F	55,2	1,48	25,2	88	não	não	188	66	DH 51
13	Genilda Araújo da Silva (B9)	10/05/05	27/05/1948	57	F	56,6	1,49	25,49	87,5	não	não	176	84	DH 165
14	Pedro Amaro dos Santos (B10)	10/05/05	24/06/1960	45	M	63,5	1,72	21,52	78	não	não	154	89	DH 426
15	Cícero Marcelino da Silva (C1)	11/05/05	20/04/1949	56	M	60	1,63	22,64	91	não	não	187	85	DH 44
16	Maria de Fátima Bezerra Alves (C2)	11/05/05	16/03/1963	42	F	58,6	1,48	26,75	88	não	não	171	83	DH 94
17	Naidete Conceição da Silva (D10)	19/08/05	20/10/1950	54	F	61	1,54	25,7	97	não	não	162	93	DH342
18	Cicera Vieira da Silva (D12)	19/08/05	26/02/1960	45	F	54,9	1,53	23,4	85	não	não	169	70	DH104
19	Neuza Araújo (B11)	11/05/05	11/09/1951	53	F	58	1,58	23	85	não	não	163	100	
20	João Oliveira (C8)	12/05/05	23/06/1945	60	M	59	1,60	23	90,5	não	não	153	90	

cod	no pcte	idade	sexo	IMC	vitC (mg)	cal	HC (g)	Fe (mg)	Lip (g)	ptn (g)	fibras (g)	Cu (µg)	Zn
GE-A2	1	47	F	28,26	90,91	1296,65	149,46	15,27	45,49	77,01	2,74	3650	6,48
GE-A3	2	42	F	26,14	160,84	1728,87	253,29	15,55	56,84	63,66	14,35	560	13,51
GE-A4	3	41	F	25,02	156,26	2544,13	384,57	19	76,44	97,53	27,17	1290	13,93
GE-A6	4	48	F	29,22	29,41	1139,26	244,24	9,08	13,7	30,76	9,38	1430	4,72
GE-A7	5	59	F	27,5	48,8	853,75	142,74	6,08	19,65	35,57	9,72	240	8,27
GE-A8	6	48	F	29,1	41,71	1673,98	183,2	15,62	72,2	76,7	7,38	810	16,19
GE-B2	7	57	M	29,78	101,86	1529,76	221,47	18,45	36,69	89,92	4,22	1040	9,81
GE-B3	8	59	F	26,4	64,98	1796,89	226,52	14,09	57,86	93,44	0,66	720	10,22
GE-B4	9	40	M	27,35	62,89	3177,9	435,1	17,65	104,18	176,74	54,18	1040	13,91
GE-B5	10	41	F	24,67	36,39	1609,34	215,89	10,71	55,74	62,34	1,16	640	5,53
GE-B8	11	57	F	25,2	80,54	773,96	108,18	6,18	24,88	31,89	1,72	600	4,06
GE-B9	12	57	F	25,49	32,93	1611,44	229,39	22,14	48,24	85,73	27,61	1330	8,89
GE-B10	13	45	M	21,52	73,73	2129,07	346,48	15,91	49,29	83,48	4,2	1140	9,05
GE-C1	14	56	M	22,64	200,87	2889,04	438,3	25,65	91,41	119,83	39,99	1610	10,58
GE-C2	15	42	F	26,75	83,15	1762,37	252,9	10,12	59,32	62,77	6,06	640	7,8
GE-D10	16	54	F	25,7	99,04	1714,58	243,66	16,47	52,55	69,1	2,43	2230	2,81
GE-D12	17	45	F	23,4	35,01	1740,96	268,46	13,99	39,88	91,1	15,19	860	10,96
GE-B11	18	53	F	23	43,94	1389,01	212,15	14,45	40,39	53,55	29,46	4960	6,91
GE-C8	19	60	M	23	108,65	2528,5	346,8	16,66	72,03	125,34	2,73	770	8,6
media		50,05263		25,79684	81,67947	1783,656	258,0421	14,89842	53,51474	80,34	13,70263	1345,263	9,064737
desvpad		7,176146		2,394951	48,12918	634,9695	93,18007	4,957653	23,08601	35,10321	15,10513	1157,158	3,611687
				CV	58,92445	35,59933	36,11041	33,27637	43,13954	43,69331	110,2352	86,01724	39,84326
				mediana	73,73	1714,58	243,66	15,55	52,55	77,01	7,38	1040	72,88

GE: Grupo Estudo

Apêndice 18

Se (µg)	Toc (mg)	Na (g)	K (mg)
29,32	19,52	26	2,19
9,86	9,7	23,21	1,05
16,72	31,31	45,24	2,47
7,32	5,74	10,46	1,58
7,07	5,22	13,49	2,63
27,93	20,67	36,86	2,05
18,26	8,64	18,45	2,16
19,52	17,1	27,32	1,41
37,72	31,81	45,72	2,26
18,31	11,58	17,11	1,25
24,8	4,94	9	1,04
24,52	10,01	18,9	1,56
32,96	17,85	26,9	1,93
21,18	17,27	27,85	2,74
26,86	15,36	23,16	5,46
6,53	12,79	15,6	1,46
33,73	6,34	17,3	4,74
12,93	9,35	16,26	2,09
39,11	11,6	20,2	1,17
21,82368	14,04211	23,10684	2,170526
10,2557	7,862183	10,34295	1,162423
46,99344	55,99006	44,7614	53,5549
58,92445	53,03237	52,55	47,56131

GE: Grupo Estudo

Apêndice 18

cod	no pcte	idade	sexo	IMC	vitC (mg)	cal	HC (g)	Fe (mg)	Lip (g)	ptn (g)	fibras (g)	Cu (µg)	Zn
GC-A5	1	38	F	22	712,13	1729,91	249,16	17,53	50,93	84,53	3,04	1720	8,37
GC-A9	2	40	F	23	184,61	3157,72	489,63	27,87	81,23	121,86	4,2	11520	16,66
GC-B6	3	45	F	26	160,26	2184,05	306,45	18,98	65,17	105,25	14,16	1960	18,8
GC-B7	4	49	F	25	45,56	742,97	112,61	9,05	20,3	38,28	1,13	790	2,62
GC-C4	5	37	F	26	129,32	1402	198,63	7,59	42,74	56,7	1,38	1270	4,55
GC-C11	6	47	F	25	110,76	2159,24	309,51	16,1	70,66	86,07	11,72	2970	28,07
GC-D1	7	54	M	26	128,28	3605,93	421,19	42,81	135,28	182,46	3,62	1880	24,37
GC-D2	8	41	M	28	101,89	3936,33	430,07	55,65	160,78	219,68	5,05	2330	29,07
GC-D3	9	53	M	29	56,59	4684,38	600,93	53,29	161,61	221,75	9,07	3020	33,71
GC-D5	10	49	F	30	17,92	1327,86	196,43	8,31	35,77	56,08	2,04	1520	4,73
GC-D6	11	50	F	30	33,38	3683,98	579,37	27,93	82,33	165,85	11,16	2740	14,05
GC-D7	12	44	F	21	657,36	2099,01	276,62	22,94	68,8	98,92	3,43	23680	19,4
GC-D8	13	46	F	21	613,65	2556,44	381,54	19,06	80,28	85,76	4,44	11320	7,69
GC-D9	14	57	F	29	355,55	2631,6	417,21	15,9	68,62	96,48	2,97	2910	8,42
GC-D11	15	43	F	29	218,35	1382,1	229,52	15,66	33,66	52,84	4,51	1930	15,03
GC-D13	16	50	M	26	37,32	2796,06	340,46	26,53	103,38	129,55	2,54	1090	12,99
GC-D16	17	40	F	28	97,77	1111,95	164,79	7,4	34,39	36,01	0,21	350	5,68
	media	46,05882		26,11765	215,3353	2423,031	335,5365	23,09412	76,23118	108,1218	4,980588	4294,118	14,95353
	desvpac	5,814536		2,997548	228,4308	1109,964	141,2792	14,87659	42,64474	58,69476	4,053815	5954,976	9,4987
				CV	106,0815	45,8089	42,10547	64,41721	55,94134	54,28579	81,3923	138,6775	63,52146
				mediana	128,28	2184,05	309,51	18,98	68,8	96,48	3,62	1960	14,05

GC: Grupo Controle

Apêndice 18

Se (µg)	Toc (mg)	Na (g)	K (mg)
30,2	11,55	19,92	1,97
27,78	12,78	29,44	2,7
26,83	21,48	40,28	1,78
13,97	6,01	8,63	0,98
19,21	8,09	12,64	1,97
33,85	18,73	46,8	5,73
20,07	22,5	46,87	2,1
33,73	27,1	56,17	2,34
41,91	29,88	63,59	4,38
19,06	8,19	12,92	1,24
47,12	22,1	36,15	3,49
21,06	12,06	31,46	2,29
13,95	12,95	20,64	2,15
22,88	18,08	26,5	1,81
11,47	16,37	31,4	1,45
13,8	10,78	23,77	1,35
8,56	2,84	8,52	1,19
23,85	15,38176	30,33529	2,289412
10,84286	7,539764	16,35052	1,229357
45,46272	49,01755	53,89932	53,6975
21,06	12,95	29,44	1,97

GC: Grupo Controle

Apêndice 19

cod	no pcte	idade	sexo	IMC	cal	EERTmed	EERTmin	EERTmax
GE-A2	1	47	F	28,26	1296,65	1745,47	1421,47	2069,47
GE-A3	2	42	F	26,14	1728,87	1719,4	1395,4	2043,4
GE-A4	3	41	F	25,02	2544,13	1716,73	1392,73	2040,73
GE-A6	4	48	F	29,22	1139,26	1965,99	1641,99	2289,99
GE-A7	5	59	F	27,5	853,75	1645,71	1321,71	1969,71
GE-A8	6	48	F	29,1	1673,98	1602,22	1278,22	1926,22
GE-B2	7	57	M	29,78	1529,76	2361,75	1963,75	2759,75
GE-B3	8	59	F	26,4	1796,89	1605,68	1281,68	1929,68
GE-B4	9	40	M	27,35	3177,9	2113,81	1915,81	2711,81
GE-B5	10	41	F	24,67	1609,34	1638,26	1314,26	1962,26
GE-B8	11	57	F	25,2	773,96	1522,76	1228,76	1876,76
GE-B9	12	57	F	25,49	1611,44	1573,13	1249,13	1897,13
GE-B10	13	45	M	21,52	2129,07	2122,97	1724,97	2520,97
GE-C1	14	56	M	22,64	2889,04	1962,46	1564,46	2360,46
GE-C2	15	42	F	26,75	1762,37	1688,23	1364,23	2112,23
GE-D10	16	54	F	25,7	1714,58	1671,4	1347,4	1995,4
GE-D12	17	45	F	23,4	1740,96	1669,22	1345,22	1993,22
GE-B11	18	53	F	23,43	1389,01	1712,57	1388,57	2036,57
GE-C8	19	60	M	23,04	2528,5	1892,25	1494,25	2290,25
media		50,05263		25,82158	1783,656	1785,79		media
desvpad		7,176146		2,366315	634,9695	223,8954		desvpad
mediana					1714,58			mediana
GC-A5	1	38	F	22,01	1729,91	1724,89	1400,89	2048,89
GC-A9	2	40	F	23,35	3157,72	1814,35	1490,35	2138,35
GC-B6	3	45	F	24,06	2184,05	1612,28	1288,28	1936,28
GC-B7	4	49	F	25,16	742,97	1578,52	1254,52	1902,52
GC-C4	5	37	F	26,31	1402	1802,91	1478,91	2126,91
GC-C11	6	47	F	25,41	2159,24	1727,04	1403,04	2051,04
GC-D1	7	54	M	22,9	3605,93	1976,13	1578,13	2374,13
GC-D2	8	41	M	28,33	3936,33	2448,99	2050,99	2846,99
GC-D3	9	53	M	28,9	4684,38	2197,61	1799,61	2595,61
GC-D5	10	49	F	29,87	1327,86	1813,37	1489,37	2137,37
GC-D6	11	50	F	29,9	3683,98	2181,68	1857,68	2505,68
GC-D7	12	44	F	20,99	2099,01	1742,5	1418,5	2066,5
GC-D8	13	46	F	20,57	2556,44	1638,26	1314,26	1962,26
GC-D9	14	57	F	28,52	2631,6	1681,99	1357,99	2005,99
GC-D11	15	43	F	29,36	1382,1	1905,44	1581,44	2229,44
GC-D13	16	50	M	26,15	2796,06	2091,92	1693,92	2489,92
GC-D16	17	40	F	24,09	1111,95	1787,86	1463,86	2111,86
media		46,05882		25,64	2423,031			media
desvpad		5,814536		3,114324	1109,964			desvpad
mediana					2184,05			mediana

Legenda: **IMC ≥ 25 < 30**
IMC ≥ 18,5 < 25
GE: Grupo Estudo
GC: Grupo Controle

Apêndice 19

HC (g)	HC%	Lip (g)	lip%	ptn (g)	ptna%	
149,46	46,1	45,49	31,57	77,01	23,75	
253,29	58,6	56,84	29,58	63,66	14,72	
384,57	60,46	76,44	27,04	97,53	15,33	
244,24	85,75	13,7	10,82	30,76	10,79	
142,74	66,87	19,65	20,71	35,57	16,66	
183,2	43,77	72,2	38,81	76,7	18,32	
221,47	57,9	36,69	21,58	89,92	23,51	
226,52	50,42	57,86	28,98	93,44	20,8	
435,1	54,76	104,18	29,5	176,74	22,24	
215,89	53,65	55,74	31,17	62,34	15,49	
108,18	55,9	24,88	28,93	31,89	16,48	
229,39	56,94	48,24	26,94	85,73	21,28	
346,48	65,09	49,29	20,83	83,48	15,68	
438,3	60,68	91,41	28,47	119,83	16,59	
252,9	57,39	59,32	30,29	62,77	14,24	
243,66	56,84	52,55	27,58	69,1	16,12	
268,46	61,68	39,88	20,61	91,1	20,93	
212,15	61,09	40,39	26,17	53,55	15,42	
346,8	54,86	72,03	25,63	125,34	19,82	
258,0421	58,35526	53,51474	26,59	80,34	17,79842	media
93,18007	8,760372	23,08601	5,871939	35,10321	3,521384	desvpad
243,66	57,39	52,55	27,58	77,01	16,59	mediana
249,16	57,61	50,93	26,49	84,53	19,54	
489,63	62,02	81,23	23,15	121,86	15,43	
306,45	56,12	65,17	26,85	105,25	19,27	
112,61	60,62	20,3	24,59	38,28	20,6	
198,63	56,67	42,74	27,43	56,7	16,17	
309,51	57,33	70,66	29,45	86,07	15,94	
421,19	46,72	135,28	33,76	182,46	20,23	
430,07	43,7	160,78	36,76	219,68	22,32	
600,93	51,31	161,61	31,04	221,75	18,93	
196,43	59,17	35,77	24,24	56,08	16,89	
579,37	62,9	82,33	20,11	165,85	18	
276,62	52,17	68,8	29,49	98,92	18,85	
381,54	59,69	80,28	28,26	85,76	13,41	
417,21	63,41	68,62	23,46	96,48	14,66	
229,52	66,42	33,66	21,91	52,84	15,29	
340,46	48,7	103,38	33,27	129,55	18,53	
164,79	59,27	34,39	27,83	36,01	12,95	
335,5365	56,69588	76,23118	27,53471	108,1218	17,47118	media
141,2792	6,259955	42,64474	4,477973	58,69476	2,645678	desvpad
309,51	57,61	68,8	27,43	96,48	18	mediana

cod	no.pcte	idade	sexo	IMC	cal	EERTmed	EERTmin	EERTmax	HC (g)	HC%	Lip (g)	lip%	ptn (g)	ptna%
GE-B10	13	45	M	21,52	2129,07	2122,97	1724,97	2520,97	346,48	65,09	49,29	20,83	83,48	15,68
GE-C1	14	56	M	22,64	2889,04	1962,46	1564,46	2360,46	438,3	60,68	91,41	28,47	119,83	16,59
GE-D12	17	45	F	23,4	1740,96	1669,22	1345,22	1993,22	268,46	61,68	39,88	20,61	91,1	20,93
GE-B11	18	53	F	23,43	1389,01	1712,57	1388,57	2036,57	212,15	61,09	40,39	26,17	53,55	15,42
GE-C8	19	60	M	23,04	2528,5	1892,25	1494,25	2290,25	346,8	54,86	72,03	25,63	125,34	19,82
	media	51,8		22,806	2135,316	1871,894	1503,494	2240,294	322,438	60,68	58,6	24,342	94,66	17,688
	desvpad	6,68580586		0,787134	599,0037	185,8202	150,9239	222,634	86,12868	3,69082	22,50322	3,475014	29,16543	2,521779
GC-A5	1	38	F	22,01	1729,91	1724,89	1400,89	2048,89	249,16	57,61	50,93	26,49	84,53	19,54
GC-A9	2	40	F	23,35	3157,72	1814,35	1490,35	2138,35	489,63	62,02	81,23	23,15	121,86	15,43
GC-B6	3	45	F	24,06	2184,05	1612,28	1288,28	1936,28	306,45	56,12	65,17	26,85	105,25	19,27
GC-D1	7	54	M	22,9	3605,93	1976,13	1578,13	2374,13	421,19	46,72	135,28	33,76	182,46	20,23
GC-D7	12	44	F	20,99	2099,01	1742,5	1418,5	2066,5	276,62	52,17	68,8	29,49	98,92	18,85
GC-D8	13	46	F	20,57	2556,44	1638,26	1314,26	1962,26	381,54	59,69	80,28	28,26	85,76	13,41
GC-D16	17	40	F	24,09	1111,95	1787,86	1463,86	2111,86	164,79	59,27	34,39	27,83	36,01	12,95
	media	43,8671429		22,56714	2349,287	1756,61	1422,039	2091,181	327,0543	56,22857	73,72571	27,97571	102,1129	17,09714
	desvpad	5,3674504		1,417612	844,6104	121,4788	100,6209	144,7557	110,7749	5,22139	31,76111	3,230458	44,3693	3,086242

Legenda: IMC ≥ 18,5 < 25
GE: Grupo Estudo
GC: Grupo Controle

Critérios de seleção dos pacientes: Grupo Estudo = Hipertensos

	Nome	Idade 09/05	Sexo	Peso	Alt	IMC	EAR vitC (mg)	EAR vitE (mg)	EAR Fe (mg)	EAR Se (mg)	EAR Zn (mg)	AI Fibra	AI Na (g)	AI K (mg)
1	Maria José Pereira da Silva (A2)	47	F	65,3	1,52	28,26	60	12	8,1	45	6,8	25	1,3	4,7
2	Miriam Ferreira da Silva (A3)	42	F	59,6	1,51	26,14	60	12	8,1	45	6,8	25	1,3	4,7
3	Maria Josete da Silva (A4)	41	F	57,8	1,52	25,02	60	12	8,1	45	6,8	25	1,3	4,7
4	Severina Marcionila da Conceição(A6)	48	F	79,5	1,65	29,22	60	12	8,1	45	6,8	25	1,3	4,7
5	Maria José da Conceição (A7)	59	F	63,5	1,52	27,5	60	12	5,0	45	6,8	21	1,2	4,7
6	Maria Edleuza dos Santos Pereira (A8)	48	F	58,5	1,42	29,10	60	12	8,1	45	6,8	25	1,3	4,7
7	José Ailton Rocha da Silva (B1)*	48	M	78,7	1,66	28,61	75	12	6,0	45	9,4	38	1,5	4,7
8	José Henrique Lima (B2)	57	M	84	1,68	29,78	75	12	6,0	45	9,4	30	1,3	4,7
9	Norma Oliveira Alves(B3)	59	F	60	1,51	26,4	60	12	5,0	45	6,8	21	1,2	4,7
10	Valdo Venceslau (B4)	40	M	72,5	1,63	27,35	75	12	6,0	45	9,4	38	1,5	4,7
11	Cícera Maria da Silva (B5)	41	F	53,3	1,47	24,67	60	12	8,1	45	6,8	25	1,3	4,7
12	Josefa Aristéia da Conceição (B8)	57	F	55,2	1,48	25,2	60	12	5,0	45	6,8	21	1,2	4,7
13	Genilda Araújo da Silva (B9)	57	F	56,6	1,49	25,49	60	12	5,0	45	6,8	21	1,2	4,7
14	Pedro Amaro dos Santos (B10)	45	M	63,5	1,72	21,52	75	12	6,0	45	9,4	38	1,5	4,7
15	Cícero Marcelino da Silva (C1)	56	M	60	1,63	22,64	75	12	6,0	45	9,4	30	1,3	4,7
16	Maria de Fátima Bezerra Alves (C2)	42	F	58,6	1,48	26,75	60	12	8,1	45	6,8	25	1,3	4,7
17	Naidete Conceição da Silva (D10)	54	F	61	1,54	25,7	60	12	5,0	45	6,8	21	1,2	4,7
18	Cícera Vieira da Silva (D12)	45	F	54,9	1,53	23,4	60	12	8,1	45	6,8	25	1,3	4,7
19	Neuza Araújo (B11)	53	F	58	1,58	23	60	12	5,0	45	6,8	21	1,2	4,7
20	João Oliveira (C8)	53	M	59	1,60	23	75	12	6,0	45	9,4	30	1,5	4,7

*não completaram protocolo do inquérito dietético

Critérios de seleção dos pacientes: Grupo Controle = Não Hipertensos

Nome	Idade 09/05	Sexo	Peso	Altura	IMC	EAR vitC (mg)	EAR vitE (mg)	EAR Fe (mg)	EAR Se (mg)	EAR Zn (mg)	AI Fibra	AI Na (g)	AI K (mg)
1	Marlene Maria da Silva (A5)	F	53,5	1,56	22,01	60	12	8,1	45	6,8	25	1,3	4,7
2	Edinaura Maria Tavares (A9)	F	60,5	1,61	23	60	12	8,1	45	6,8	25	1,3	4,7
3	Genir Fortunato Oliveira (B6)	F	57,2	1,48	26	60	12	8,1	45	6,8	25	1,3	4,7
4	Maria da Luz da Silva (B7)	F	53,6	1,46	25	60	12	8,1	45	6,8	25	1,3	4,7
5	Marlene de Araújo Lins (C4)	F	62,5	1,54	26	60	12	8,1	45	6,8	25	1,3	4,7
6	Maria Aurea Jorge Félix (C11)	F	61	1,55	25	60	12	8,1	45	6,8	25	1,3	4,7
7	José Maria da Silva (D1)	M	60	1,62	26	75	12	6,0	45	9,4	30	1,3	4,7
8	José Maria de Barros (D2)	M	79,9	1,68	28	75	12	6,0	45	9,4	38	1,5	4,7
9	José Antônio da Silva (D3)	M	74	1,60	29	75	12	6,0	45	9,4	30	1,3	4,7
10	José Luiz dos Santos (D4)*	M	69	1,54	29	75	12	6,0	45	9,4	38	1,5	4,7
11	Jeonice Barros (D5)	F	71,7	1,54	30	60	12	8,1	45	6,8	25	1,3	4,7
12	Benedito Delmiro Santos (D6)	F	94,7	1,70	30	60	12	8,1	45	6,8	25	1,3	4,7
13	Maria Cele da Silva Lima (D7)	F	55	1,62	21	60	12	8,1	45	6,8	25	1,3	4,7
14	Maria Cristina Silva Lima (D8)	F	50	1,56	21	60	12	8,1	45	6,8	25	1,3	4,7
15	Maria Antônia Moreira (D9)	F	65,9	1,52	29	60	12	5,0	45	6,8	21	1,2	4,7
16	Marineide Diodino Silva (D11)	F	74	1,60	29	60	12	8,1	45	6,8	25	1,3	4,7
17	Manoel Moisés da Silva (D13)	M	65,9	1,59	26	75	12	6,0	45	9,4	38	1,5	4,7
18	João Amaro dos Santos (D14)*	M	62	1,6	24	75	12	6,0	45	9,4	25	1,5	4,7
19	Maria Cícera Santos Silva (D15)*	F	70	1,58	28	60	12	8,1	45	6,8	25	1,3	4,7
20	Ma Mercês Rosendo Silva (D16)	F	62,7	1,50	28	60	12	8,1	45	6,8	25	1,3	4,7
21	Marileide Monteiro Santos (D17)*	F	60	1,58	24	60	12	8,1	45	6,8	25	1,3	4,7

*não completaram protocolo do inquérito dietético

Balanco dados / Medicação anti-hipertensiva e posologia - Grupo Estudo

	Nome	ACS	TCLE	R24H	BIA	medicação		
1	Maria José Pereira da Silva (A2)	Meire PSFIII	X	3	X	C 25mg 1Xdia		
2	Miriam Ferreira da Silva (A3)	Meire PSFIII	X	3	X	HCT 25mg 1Xdia		
3	Maria Josete da Silva (A4)	Melk PSFIII	X	3	X	HCT 25mg 1Xdia		
4	Severina Marcionila da Conceição(A6)	Flávio PSFIII	X	3	X	C 25mg 2Xdia HCT 25mg 2Xdia		
5	Maria José da Conceição (A7)	Beto PSFIII	X	3	X	C 25mg 2Xdia		
6	Maria Edleuza dos Santos Pereira (A8)	Beto PSFIII	X	3	X	C 25mg 2Xdia		
7	José Ailton Rocha da Silva (B1)	Taciana PSFIV	X	1	X	C 25mg 1Xdia HCT 25mg 1Xdia		
8	José Henrique Lima (B2)	Mônica PSFV	X	3	X	enalapril 10mg + AAS		
9	Norma Oliveira Alves(B3)	Mônica PSFV	X	3	X	HCT 25mg 1Xdia		
10	Valdo Venceslau (B4)	Helena PSFII	X	3	X			
11	Cícera Maria da Silva (B5)	Melk PSFIII	X	3	X	HCT 25mg 1Xdia		
12	Josefa Aristeia da Conceição (B8)	Quiteria PSF IV	X	3	X	C 25mg 1Xdia HCT 25mg 1Xdia		
13	Genilda Araújo da Silva (B9)	Helena PSFII	X	3	X	HCT 25mg 1Xdia		
14	Pedro Amaro dos Santos (B10)	Júnior PSFIV	X	3	X	C 25mg 1Xdia		
15	Cícero Marcelino da Silva (C1)	Edjanete PSFIV	X	3	X	HCT 25mg 1Xdia		
16	Maria de Fátima Bezerra Alves (C2)	Arlete PSFIV	X	2	X	metildopa		
17	Naidete Conceição da Silva (D10)	Júnior PSFIV	X	3	X			
18	Cícera Vieira da Silva (D12)	Edjanete PSFIV	X	3	X	C 75mg + HCT 25mg + propranolol 40 mg		
19	Neuza Araújo (B11)	Maria PSFII	X	3		HCT25 mg 2Xdia + Captopril 25 mg 2Xdia		
20	João Oliveira (C8)	Maria PSFII	X	3	X	Captopril 25 mg 2Xdia		

Apêndice 23

hipertensc numero	Vit. C	TF	CER	SOD	CAT	GPx	GSH	Ac. Úrico	MDA	carbondrina	TIB
A2	33,38	210	39	1479	132,04	19,22	3,52	4,1	1,3	5,69	317
A3	44,29	271	38	2831	99,21	37,67	7,65	3,8	1,15	2,23	393
A4	29,76	171	54	820	37,88	21,78	3,99	3,2	1,54	4,61	268
A6	26,43	150	45	1335	31,09	21,5	4,86	3	1,03	1,67	241
A7	31,91	167	35	1941	74,99	26,59	3,31	3,8	1,56	5,83	263
A8	20,78	179	55	2116	3,95	32,81	4,88	2,9	0,77	2,37	278
B1	38,42	186	35	778	83,37	19,12	6,37	4,4	1,7	1,74	286
B2	58,69	182	41	1221	104,52	26,97	5,51	7,1	1,98	1,14	281
B3	55,3	194	46	1088	114,55	7,85	7,93	3,8	2,74	0,386	296
B4	52,68	201	25	896	47,86	17,8	3,89	4,8	1,63	0,69	306
B5	27,51	222	35	954	61,78	24,85	2,27	3	1,06	2,43	331
B8	33	193	33	1941	57,44	26,59	5,8	2,6	1,32	4,14	269
B9	36,84	203	44	2156	55,25	27,7	6,33	3,6	0,8	0,819	308
B10	52,31	181	43	1609	67,18	26,59	4,86	4,7	0,75	2,2	280
B11	43,35	197	48	1461	74,11	11,41	4,68	3,1	1,51	0,433	300
C1	70,2	132	22	1179	91,72	21,51	2,58	7,6	0,78	1,28	219
C2	34,86	190	29	1527	67,29	21,19	3,78	3,3	1,14	1,67	292
C8	39,74	148	35	724	38,42	16,63	4,74	3,6	1,69	1,31	239
D10		164	34	2312	20,76	1,12	15,73	5,5	16,23	1,74	259
D12		251	36	1609	96,67	1,3	3,88	3,8	15,49	0,383	368
media	40,525	189,6	38,6	1498,85	68	21	5,328	4,085	2,8085	2,13805	289,7
desvpad	12,93441	32,96154	8,610887	575,0391	32,83207	9,422956	2,871905	1,329137	4,490684	1,663594	41,56175
mediana	37,63	188	37	1470	67,235	21,505	4,8	3,8	1,415	1,705	283,5

18 pctes

Apêndice 23

Controle	numero	Vit C	TF	CER	SOD	CAT	GPX	GSH	Ac. Úrico	MDA	carboptrina	TIB
A5	1	35,61	162	43	1249	65,06	24,11	5,01	3,7	0,85	0,813	256
A9	2	27,32	254	43	1658	102,48	24,11	6,29	4,2	0,83	3,43	318
B6	3	32	164	37	809	54,76	20,94	3,86	3,1	1,48	2,57	259
B7	4	32,01	141	31	1473	122,06	27,43	7,87	2,7	1,11	0,654	230
C4	5	53,01	134	32	1266	20,68	22,03	4,03	2,4	1,14	0,73	221
C11	6	27,55	153	32	838	56,4	11,43	5,17	2,5	1,59	0,857	245
D1	7		175	29	1756	125,69	2,29	21	3,6	26,66	2,47	273
D2	8		181	32	1326	179,5	1,69	5,99	4,7	15,83	5,7	280
D3	9		189	30	1741	18,91	0,49	8,67	3,7	14,37	2,23	290
D4	10		159	29	1722	58,66	1,16	15,98	3,8	8,05	0,457	253
D5	11		201	32	1974	90,08	1,13	9,42	3,3	5,82	0,526	306
D6	12		158	31	1617	165,92	1,96	4,8	5	1,12	1,67	251
D7	13		261	34	1981	71,06	2,81	14,58	1,7	6,38	0,579	381
D8	14		247	36	2317	111,59	1,86	9,72	3,3	13,22	2,36	363
D9	15		216	36	1541	95,44	1,92	5,28	4,7	14,66	3,46	324
D11	16		177	34	2324	100,94	0,85	4,49	2,8	9,74	1,14	275
D13	17		213	39	1440	122,39	0,74	6,77	3	8,91	0,69	320
D14	18		197	34	1731	105,83	1,85	7	4,2	12,73	2,41	296
D15	19		224	33	1974	215,37	2,6	19,67	3,2	10,46	2,59	333
D16	20		237	33	2061	145,75	2	15,13	3,8	15,01	0,654	350
D17	21		234	31	1831	115,02	9,8	7,5	3,9	8,81	4,14	346
media		34,58333	194,1429	33,85714	1649	102	8	8,963333	3,490476	8,512857	1,910952	293,8095
desvpad		9,551079	38,42432	3,965926	407,4262	49,3603	9,598126	5,188883	0,82759	6,832326	1,425012	45,29307
mediana		32,01	189	33	1722	102,48	2	7	3,6	8,81	1,67	290

6pctes

Tabela 4 – Correlação entre IMC e ingestão de caloria segundo o grupo

Hipertensos	Grupo Controle	Total
$r_s = -0,435$ ($p = 0,063$)	$r_p = -0,368$ ($p = 0,121$)	$r_s = -0,162$ ($p = 0,346$)

r_s = correlação de Spearman
 r_p = correlação de Pearson.

Tabela 5 – Correlação entre segundo cobre e as variáveis relativas ao estresse oxidativo segundo o grupo

Variável	Hipertensos	Controle
CER	$r_s = 0,250$ ($p = 0,302$)	$r_s = 0,135$ ($p = 0,606$)
CAT	$r_s = -0,124$ ($p = 0,614$)	$r_s = -0,230$ ($p = 0,374$)
GPx	$r_s = -0,364$ ($p = 0,125$)	$r_s = -0,076$ ($p = 0,772$)
GSH	$r_s = 0,004$ ($p = 0,989$)	$r_s = 0,022$ ($p = 0,933$)
MDA	$r_s = -0,073$ ($p = 0,767$)	$r_s = 0,002$ ($p = 0,993$)

r_s = correlação de Spearman

Tabela 6 – Correlação entre segundo ferro e as variáveis relativas ao estresse oxidativo segundo o grupo

Variável	Hipertensos	Controle
CER	$r_p = -0,008$ ($p = 0,974$)	$r_p = -0,193$ ($p = 0,458$)
CAT	$r_p = 0,064$ ($p = 0,794$)	$r_p = 0,191$ ($p = 0,464$)
GPx	$r_p = -0,035$ ($p = 0,887$)	$r_s = -0,266$ ($p = 0,302$)
GSH	$r_s = 0,161$ ($p = 0,511$)	$r_p = 0,182$ ($p = 0,484$)
MDA	$r_s = -0,049$ ($p = 0,842$)	$r_s = 0,208$ ($p = 0,422$)

r_s = correlação de Spearman
 r_p = correlação de Pearson.

Tabela 7 – Correlação entre segundo a vitamina C e as variáveis relativas ao estresse oxidativo segundo o grupo

Variável	Hipertensos	Controle
CER	$r_p = -0,278$ ($p = 0,250$)	$r_s = 0,490$ ($p = 0,046^*$)
CAT	$r_p = 0,206$ ($p = 0,398$)	$r_s = -0,203$ ($p = 0,434$)
GPx	$r_p = 0,168$ ($p = 0,492$)	$r_s = 0,084$ ($p = 0,749$)
GSH	$r_s = 0,072$ ($p = 0,770$)	$r_s = 0,077$ ($p = 0,769$)
MDA	$r_s = -0,102$ ($p = 0,678$)	$r_s = -0,039$ ($p = 0,883$)

(*) – Correlação significativa diferente de zero ao nível de 5,0%.

r_s = correlação de Spearman

r_p = correlação de Pearson.

Tabela 8 – Correlação entre segundo zinco e as variáveis relativas ao estresse oxidativo segundo o grupo

Variável	Hipertensos	Controle
CER	$r_p = 0,244$ ($p = 0,314$)	$r_p = -0,248$ ($p = 0,340$)
CAT	$r_p = -0,012$ ($p = 0,960$)	$r_p = -0,104$ ($p = 0,690$)
GPx	$r_p = 0,320$ ($p = 0,182$)	$r_s = -0,264$ ($p = 0,307$)
GSH	$r_s = -0,002$ ($p = 0,994$)	$r_p = 0,101$ ($p = 0,701$)
MDA	$r_s = -0,047$ ($p = 0,847$)	$r_s = 0,333$ ($p = 0,191$)

r_s = correlação de Spearman

r_p = correlação de Pearson.

Tabela 9 – Correlação entre segundo legumes/verdura e as variáveis relativas ao estresse oxidativo segundo o grupo

Variável	Hipertensos	Controle
CER	$r_s = -0,246$ ($p = 0,309$)	$r_s = 0,137$ ($p = 0,600$)
CAT	$r_s = 0,581$ ($p = 0,009$)	$r_s = -0,441$ ($p = 0,077$)
GPx	$r_s = -0,428$ ($p = 0,068$)	$r_s = -0,309$ ($p = 0,227$)
GSH	$r_s = -0,374$ ($p = 0,115$)	$r_s = 0,184$ ($p = 0,479$)

ANEXOS



MS – HIPERDIA
PLANO DE REORGANIZAÇÃO DA ATENÇÃO
À HIPERTENSÃO ARTERIAL E AO DIABETES MELLITUS

1.ª Via: Enviar para digitação
CADASTRO DO HIPERTENSO
E/OU DIABÉTICO

Nome da Unidade de Saúde (*)	Cód. SIA/SUS (*)	Número do Prontuário
------------------------------	------------------	----------------------

IDENTIFICAÇÃO DO USUÁRIO (*)					
Nome (com letra de forma e sem abreviaturas)				Data Nascimento / /	Sexo <input type="checkbox"/> M <input type="checkbox"/> F
Nome da Mãe (com letra de forma e sem abreviaturas)			Nome do Pai		
Raça/Cor (TV)	Escolaridade (TV)	Nacionalidade <input type="checkbox"/> Brasileira <input type="checkbox"/> Estrangeira	País de Origem	Data Naturalização / /	
Nº Portaria	UF Munic. Nasc.	Nome Munic. Nascimento	Sit. familiar/Conjugal (TV)	Nº Cartão SUS	

DOCUMENTOS GERAIS					
Título de Eleitor	Número	Zona	Série		
CTPS	Número	Série	UF	Data de Emissão / /	
CPF	Número	PIS/PASEP	Número		

DOCUMENTOS OBRIGATÓRIOS (**)					
Identidade	Número	Complemento	Órgão (TV)	UF	Data de Emissão / /
Certidão (TV)	Tipo	Nome do Cartório			Livro
	Folha	Termo			Data de Emissão / /

ENDEREÇO (*)					
Tipo Logradouro	Nome do Logradouro			Número	Complemento
Bairro	CEP	DDD	Telefone		

DADOS CLÍNICOS DO PACIENTE					
Pressão Arterial Sistólica (*)	Pressão Arterial Diastólica (*)	Cintura (cm)		Peso (kg) (*)	
Altura (cm) (*)	Glicemia Capilar (mg/d)		<input type="checkbox"/> Em jejum	<input type="checkbox"/> Pós prandial	

Fatores de risco e Doenças concomitantes	Não	Sim	Presença de Complicações	Não	Sim
Antecedentes Familiares - cardiovasculares			Infarto Agudo Miocárdio		
Diabetes Tipo 1			Outras coronariopatias		
Diabetes Tipo 2			AVC		
Tabagismo			Pé diabético		
Sedentarismo			Amputação por diabetes		
Sobrepeso/Obesidade			Doença Renal		
Hipertensão Arterial					

TRATAMENTO										
Não Medicamentoso: <input type="checkbox"/>										
Medicamentoso						Unidades/dia				
	Comprimidos/dia									
Tipo	1/2	1	2	3	4	5	6			
Hidroclorotiazida 25mg										
Propranolol 40mg										
Captopril 25mg										
Glibenclamida 5mg								Insulina		
Metformina 850 mg										
Outros <input type="checkbox"/> SIM <input type="checkbox"/> NÃO										

Data da Consulta (*) / /	Assinatura do Responsável pelo atendimento (*)
-----------------------------	--

Legenda: (*) Campos obrigatórios, com exceção: nome pai; data naturalização e nº portaria, se nacionalidade brasileira (nascido no Brasil); complemento, DDD e telefone. (**) Pelo menos um dos documentos é obrigatório. TV = Tabela no verso do formulário.

VERSO DA FICHA DE CADASTRO DO HIPERTENSO E DIABÉTICO

Risco Estratificado e Quantificação de Prognóstico Pressão Arterial (mmHg)

Outros fatores de risco ou doença	Grau 1 Hipertensão leve PAS 140-159 ou PAD 90-99	Grau 2 Hipertensão moderada PAS 160-179 ou PAD 100-109	Grau 3 Hipertensão grave PAS >=180 ou PAD >= 110
I- Sem outros fatores de risco	Risco baixo	Risco médio	Risco alto
II- 1-2 Fatores de risco	Risco médio	Risco médio	Risco muito alto
III- 3 ou mais fatores de risco ou lesões nos órgãos-alvo ou diabetes	Risco alto	Risco alto	Risco muito alto
IV- Condições clínicas associadas, incluindo doença cardiovascular ou renal	Risco muito alto	Risco muito alto	Risco muito alto

Diabetes Tipo 1 – ocorre principalmente em crianças, jovens e adultos jovens. Precisam usar insulina para controlar a glicose no sangue desde o momento do diagnóstico.

Diabetes Tipo 2 – aparece geralmente após os 40 anos de idade, freqüentemente em pessoas que têm excesso de peso.

Tabagismo - é igual ao consumo de 01 um ou mais cigarros por dia.

Sedentarismo – quem realiza menos que 30 (trinta) minutos de exercício, 03 (três) vezes por semana e não faz esforço físico pesado em casa ou no trabalho. Ex: faxina, lavagem manual de roupas, carrega carga pesada, movimentação britadeira etc.

Sobrepeso ou Obesidade – classificação de acordo com a tabela:

Classificação	IMC (peso em Kg/altura ao quadrado)	Risco de co-morbidade
Normal	18,5-24,9	Baixo
Sobrepeso	25,0-29,9	Pouco aumentado
Obeso Classe I	30,0-34,9	Moderado
Obeso Classe II	35,0-39,9	Grave
Obeso Classe III	>= 40,0	Muito grave

TABELAS DE REFERÊNCIAS

Raça/Cor	
Código	Descrição
1	Branca
2	Preta
3	Amarela
4	Parda
5	Indígena

Certidão/Tipo	
Código	Descrição
1	Nascimento
2	Casamento
3	Separação/Divórcio

Situação familiar/Conjugal	
Código	Descrição
1	Convive c/ companheira(o) e filho(s)
2	Convive c/ companheira(o) c/ laços conjugais e s/ filhos
3	Convive c/ companheira(o), filhos e/ou outros familiares
4	Convive c/ familiares, sem companheira(o)
5	Convive c/ outra(s) pessoa(s), sem laços consanguíneos e/ou laços conjugais
6	Vive só

Escolaridade	
Código	Descrição
01	Não sabe ler/escrever
02	Alfabetizado
03	Fundamental incompleto (1º grau incompleto)
04	Fundamental completo (1º grau completo)
05	Médio Incompleto (2º grau incompleto)
06	Médio completo (2º grau completo)
07	Superior incompleto
08	Superior completo
09	Especialização/Residência
10	Mestrado
11	Doutorado

Órgão Emissor	
Código	Descrição
10	SSP
41	Ministério da Aeronáutica
42	Ministério do Exército
43	Ministério da Marinha
44	Polícia Federal
60	Carteira de Ident. Clássica
61	Cons. Reg. de Administração
62	Cons. Reg. de Ass. Social

63	Cons. Reg. de Biblioteconomia
64	Cons. Reg. de Contabilidade
65	Cons. Reg. de Corretores de Imóveis
66	Cons. Reg. de Enfermagem
67	Cons. Reg. de Engenharia, Arquitetura e Agronomia
68	Cons. Reg. de Estatística
69	Cons. Reg. de Farmácia
70	Cons. Reg. de Fisioterapia e Terapia Ocupacional
71	Cons. Reg. de Medicina
72	Cons. Reg. de Med. Veterinária
73	Cons. Reg. de Músicos do Brasil
74	Cons. Reg. de Nutrição
75	Cons. Reg. de Odontologia
76	Cons. Reg. de Prof. Relações Públicas
77	Cons. Reg. de Psicologia
78	Cons. Reg. de Química
79	Cons. Reg. de Repr. Comerciais
80	Cons. Reg. de Advogados do Brasil
81	Outros Emissores
82	Documento Estrangeiro

GUIA ALIMENTAR PARA A POPULAÇÃO BRASILEIRA

continuação

Alimentos	Peso (g)	Medida caseira
purê de batata	135,0	2 colheres de servir
purê de inhame ¹	135,0	3 colheres de servir
torrada salgada	40,0	4 unidades
torrada de fibras	45,0	4 unidades
torrada glúten	50,0	5 unidades
torrada (pão francês)	33,0	6 fatias

Verduras e Legumes
1 porção = 15kcal

Alimentos	Peso (g)	Medida caseira
abóbora cozida (menina, japonesa, moranga)	53,0	1 1/2 colher de sopa
abobrinha cozida	81,0	3 colheres de sopa
acelga cozida	85,0	2 1/2 colheres de sopa
acelga crua (picada)	90,0	9 colheres de sopa
agrião	130,0	22 ramos
aipo cru	80,0	2 unidades
alcachofra cozida	35,0	1/4 unidade
alface	120,0	15 folhas
almeirão	65,0	5 folhas
aspargo em conserva	80,0	8 unidades
berinjela cozida	60,0	2 colheres de sopa
berतालha refogada ¹	25,0	1 colher de sopa
beterraba cozida	30,0	3 fatias
beterraba crua ralada	42,0	2 colheres de sopa
brócolis cozido	60,0	4 1/2 colheres de sopa
broto de alfafa cru	50,0	1 1/2 xícara de chá
broto de feijão cozido	81,0	1 1/2 colher de servir
cenoura cozida (fatias)	35,0	7 fatias
cenoura cozida (picada)	36,0	1 colher de servir
cenoura crua (picada)	36,0	1 colher de servir
chuchu cozido	57,0	2 1/2 colheres de sopa
couve-flor cozida	69,0	3 ramos
couve-manteiga cozida	42,0	1 colher de servir
ervilha em conserva	13,0	1 colher de sopa
ervilha fresca	19,5	1 1/2 colher de sopa
ervilha torta (vagem)	11,0	2 unidades
escarola	83,0	15 folhas
espinafre cozido	60,0	3 colheres de sopa
jiló cozido	40,0	1 1/2 colher de sopa
maxixe cozido ¹	120,0	3 colheres de sopa
mostarda	83,0	8 folhas
palmito em conserva	100,0	2 unidades
pepino japonês	130,0	1 unidade
pepino picado	116,0	4 colheres de sopa
pimentão cru fatiado (vermelho/verde)	70,0	10 fatias
pimentão cru picado (vermelho/verde)	72,0	3 colheres de sopa

ANEXO C

continuação

Alimentos	Peso (g)	Medida caseira
quiabo cozido	80,0	2 colheres de sopa
rabanete	102,0	3 unidades
repolho branco cru (picado)	72,0	6 colheres de sopa
repolho cozido	75,0	5 colheres de sopa
repolho roxo cru (picado)	60,0	5 colheres de sopa
rúcula	83,0	15 folhas
salsão cru	38,0	2 colheres de sopa
tomate caqui	75,0	2 1/2 fatias
tomate cereja	70,0	7 unidades
tomate comum	80,0	4 fatias
vagem cozida	44,0	2 colheres de sopa

Frutas
1 porção = 70kcal

Alimentos	Peso (g)	Medida caseira
abacate	32,0	1 colher de sopa
abacaxi	130,0	1 fatia
acerola	224,0	32 unidades
ameixa-preta seca	30,0	3 unidades
ameixa-vermelha	140,0	4 unidades
banana-prata	86,0	1 unidade
banana-nanica	86,0	1 unidade
caju	147,0	2 1/2 unidades
caqui	113,0	1 unidade
carambola	220,0	2 unidades
cereja	96,0	24 unidades
damasco seco	30,0	4 unidades
fruta-do-conde	75,0	1/2 unidade
goiaba	95,0	1/2 unidade
jabuticaba	140,0	20 unidades
jaca	132,0	4 bagos
kiwi	154,0	2 unidades
laranja-baía	144,0	8 gomos
laranja-pêra	137,0	1 unidade
limão	252,0	4 unidades
maçã	130,0	1 unidade
mamão-formosa	160,0	1 fatia
mamão-papaia	141,5	1/2 unidade
manga	110,0	1 unidade
manga polpa	94,5	1/2 xícara de chá
maracujá (suco puro)	94,0	1/2 xícara de chá
melancia	296,0	2 fatias
melão	230,0	2 fatias
morango	240,0	10 unidades
nectarina	184,0	2 unidades
pêra	133,0	1 unidade

GUIA ALIMENTAR PARA A POPULAÇÃO BRASILEIRA

continuação

Alimentos	Peso (g)	Medida caseira
pêssego	226,0	2 unidades
salada de frutas (banana, maçã, laranja, mamão)	125,0	1/2 xícara de chá
suco de abacaxi	125,0	1/2 copo de requeijão
suco de laranja (puro)	187,0	1/2 copo requeijão
suco de melão	170,0	1/2 copo de requeijão
suco de tangerina	164,0	1/2 copo requeijão
suco de uva (industrializado)	100,0	1/2 copo requeijão
tangerina/mexerica	148,0	1 unidade
uva comum	99,2	22 uvas
uva-itália	99,2	8 uvas
uva-rubi	103,0	8 uvas
uva-passa	17,0	1 colher de sopa
vitamina (mamão, maçã, banana, leite)	125,0	1/2 copo requeijão

Feijões
1 porção = 55kcal

Alimentos	Peso (g)	Medida caseira
ervilha seca cozida	72,5	2 1/2 colheres de sopa
feijão branco cozido	48,0	1 1/2 colher de sopa
feijão cozido (50% de caldo)	86,0	1 concha
feijão cozido (somente grãos)	50,0	2 colheres de sopa
feijão preto cozido ¹	80,0	1 concha média rasa
grão-de-bico cozido	36,0	1 1/2 colheres de sopa
lentilha cozida	48,0	2 colheres de sopa
soja cozida	43,0	1 colher de serviço (arroz)

Carnes e Ovos
1 porção = 190kcal

Alimentos	Peso (g)	Medida caseira
atum em lata	90,0	2 colheres de sopa
bacalhoadada	75,0	1/2 porção
bacalhau cozido ¹	135,0	1 pedaço médio
Bife de fígado frito	100,0	1 unidade média ¹
Bife enrolado	110,0	1 unidade
bife grelhado	90,0	1 unidade ¹
camarão frito	80,0	10 unidades
carne assada (patinho)	75,0	1 fatia pequena
carne cozida ¹	80,0	4 pedaços pequenos
carne cozida de peru tipo "blanquet"	150,0	10 fatias
carne moída refogada	90,0	5 colheres de sopa
carne seca	40,0	2 pedaços pequenos ¹
carré ¹	90,0	1 unidade média
costela bovina assada ¹	40,0	1 pedaço pequeno

ATIVIDADES REALIZADAS DURANTE O CURSO DE DOUTORADO

CURRICULUM VITAE RESUMIDO

SANDRA MARY LIMA VASCONCELOS

Relatório de Atividades: julho/2002 a julho/2006

Ano de 2002

1) Participou do **XXII Congresso Pernambucano de Cardiologia e V Fórum de Nutrição em Cardiologia**, na mesa redonda: Nutrição e Qualidade de Vida, ministrando a palestra "O Papel dos Antioxidantes na Preservação Cardiovascular". 08 a 10/08/2002. Centro de Convenções. Recife – PE

2) Organizou e participou do **IV Congresso Alagoano de Cardiologia e II Jornada Alagoana de Nutrição em Cardiologia**. 05 a 07/09/2002. Hotel Praia Dourada, Maragogi – AL:

2.1 Realização da jornada de nutrição mediante projeto de auxílio à organização de reunião científica - FAPEAL, processo 2002.05.003-03

2.2 Conferência I: "Insuficiência Cardíaca Congestiva "

2.3 Temas livres apresentados

2.3.1 Estudo Ciclovoltamétrico do Antioxidante Quercetina. **Vasconcelos SML**, Moura MABF, Goulart MOF.

2.3.2 Associação entre limiar gustativo ao sal e lesões em órgãos-alvo (LOAs) em hipertensos primários

2.3.3 Uma experiência no acompanhamento nutricional de hipertensos diabéticos em parceria com o programa de saúde da família - PSF

2.3.4 Cálculo do consumo de calorias totais, sódio, potássio em hipertensos: método convencional *versus* sistema de equivalentes

2.3.5 Avaliação da adesão à dieta: critérios aplicados a cardiopatas

2.3.6 Métodos de determinação da gordura corporal em hipertensas não obesas segundo IMC

2.3.7 Avaliação da ingestão de Na, K e Ca por inquérito alimentar e excreção urinária de 24 h em uma amostra de hipertensos

Ano de 2003

1) Participou da **I Semana de Química da UFAL**, apresentando o trabalho "Estudo Ciclovoltamétrico do Antioxidante Quercetina", relacionado com o primeiro experimento em eletroquímica, onde enfatizou a inter-relação entre a Química, a Nutrição e a Cardiologia, bem como a importância das pesquisas interdisciplinares. 20 a 24/01/2003. Maceió-AL

2) Participou da comissão julgadora de temas livres de nutrição em cardiologia para o **58º Congresso da Sociedade Brasileira de Cardiologia**. 28/09 a 01/10/2003. Salvador-BA.

3) Publicou a 2ª edição, revista e ampliada do livro:

VASCONCELOS, S. M. L. Manual de Avaliação Nutricional de Enfermos nas Diversas Etapas da Vida, 2 ed., Maceió:EDUFAL. 2003, 148 p.

4) Participou da **I Jornada de Nutrição do hospital Governador João Alves Filho**. Ministrando a conferência "Influência dos Antioxidantes no Tratamento da Doença Cardíaca". 05 e 06/09/2003. Aracaju-SE.

Ano de 2004

1) Participou da **III Simpósio de Nutrição da Santa Casa de Misericórdia de Maceió**, ministrando a conferência "Influência dos Antioxidantes no Tratamento da Doença Cardíaca". 19 e 20/03/2003. Maceió-AL.

2) Participou da **II Semana de Química**, ministrando a conferência "Radicais Livres e Saúde - parte II", com a Profa Marília Goulart. 19 e 20/03/2003. Maceió-AL.

3) Organizou e participou do V Congresso Alagoano de Cardiologia e III Jornada Alagoana de Nutrição em Cardiologia. 26 a 28/08/2004. Hotel Salinas, Maragogi – AL:

3.1 Realização da jornada de nutrição mediante projeto de auxílio à organização de reunião científica - FAPEAL, processo 2004.06.299-0

3.2 Conferência: " O estresse oxidativo na apoptose da ICC justifica a terapia antioxidante? "

3.3 Agonista da sessão de controvérsias: Consumo de sururu e frutos do mar em dislipidemicos.

3.4 Temas livres apresentado "Avaliação do potencial antioxidante de flavonóides via eletroquímica". **SML Vasconcelos**, MABF Moura, MOF Goulart.

3.5 Orientação dos temas livres apresentados por alunas de nutrição

3.5.1 Gordura na dieta de uma população da zona da mata alagoana: uma avaliação a partir de alimentos selecionados

3.5.2 Freqüência de consumo e técnica de dessalga do charque adotada por uma população de hipertensos

3.5.3 Consumo de café e técnica de preparo empregada em ima população de hipertensos

3.5.4 Freqüência de síndrome metabólica em pacientes atendidos no ambulatório de nutrição do serviço de cardiologia do HU/UFAL

3.5.5 Perfil clinico-epidemiológico dos hipertensos do município de Flexeiras-AL, segundo dados do HIPERDIA/MS

3.5.6 Associação entre IMC e obesidade andróide em hipertensos do município de Flexeiras-AL

3.5.7 Caracterização de uma população de hipertensos com sobrepeso e obesidade segundo sedentarismo e tabagismo

3.5.8 Obesidade em adolescentes segundo antropometria e bioimpedância elétrica

4) Participou da II Semana do Nutricionista e III Jornada de Nutrição do CESMAC, ministrando a palestra "O uso de antioxidantes na proteção cardiovascular: uma breve revisão". 31/08 a 03/09/2004. Maceió-AL.

5) Participou da I Jornada Interdisciplinar da Unidade de Emergência Dr Armando Lages.

5.1 Ministrou a palestra "Acidente Vascular Encefálico". 10 a 12/11/2004 . Maceió-AL.

5.2 Apresentou o trabalho "Eletroquímica antioxidante de flavonóides selecionados". **SML Vasconcelos**, MABF Moura, MOF Goulart

6) Participou da XXI Congresso Brasileiro de Arritmias Cardíacas.

6.1: Agonista da sessão de controvérsias: " O estresse oxidativo na apoptose da ICC justifica a terapia antioxidante?" 01 a 04/12/2004 . Belo Horizonte-MG.

6.2 Apresentando temas livres:

6.2.1 Avaliação do potencial antioxidante de flavonóides via eletroquímica. **SML Vasconcelos**, MABF Moura, MOF Goulart.

6.2.2 Freqüência de consumo e técnica de dessalga do charque adotada por uma população de hipertensos

6.2.3 Consumo de café e técnica de preparo empregada em ima população de hipertensos

6.2.4 Freqüência de síndrome metabólica em pacientes atendidos no ambulatório de nutrição do serviço de cardiologia do HU/UFAL

7) Publicações completas em anais de congresso

8.1 Goulart, MOF, Moura MABF, **Vasconcelos. SML** Estudo eletroquímico do antioxidante quercetina, em meio aprótico. **Livro de resumos**, ORG-09. XIV SIMPÓSIO BRASILEIRO DE ELETROQUÍMICA E ELETROANALÍTICA, Terezópolis, RJ, 2004 – resumo/

Ano de 2005

1) Organizou o Simpósio de Atualização em Síndrome Metabólica, realizado pela SBC (Sociedade Brasileira de Cardiologia) – AL. 27/01/ 2005. Auditório da Sociedade de Medicina de Alagoas. Maceió-AL e ministrou palestra "A prescrição dietética baseada em evidências científicas".

2) Participou da **Banca de Avaliação das Monografias do Curso de Pós-Graduação *Latu Sensu* em Clínica e Terapêutica Nutricional**, do IPCE-SP. 18 e 19/07/2005. Maceió-AL

3) Participou do **XXV Congresso Norte-Nordeste de Cardiologia e IX Simpósio de Nutrição em Cardiologia**. 08 a 11/06/2005. Centro de Convenções da Bahia, Salvador – BA:

3.1 Debatedora do colóquio "Orientação dietética em cardiologia. Quais as dificuldades para aderir?"

3.2 Coordenadora da sessão de controvérsias "Contagem de carboidratos – aplicabilidade na nutrição"

3.3 Apresentadora do tema livre pôster "Avaliação do potencial antioxidante de flavonóides via eletroquímica"

3.4 Apresentadora do tema livre oral "Perfil glicêmico antropométrico de uma população diabética atendida pelo programa HIPERDIA-MS do município de Flexeiras – AL"

3.5 Apresentadora do tema livre pôster "Frequência de hipertrigliceridemia em pacientes com obesidade abdominal atendidos pelo programa HIPERDIA-MS do município de Flexeiras – AL"

5) Organizou o **Curso de Contagem de Carboidratos**, para médicos cardiologistas e endocrinologistas, nutricionistas, enfermeiros e estudantes de medicina, nutrição e enfermagem, promovido pela PREVENTA-SP. 27 de agosto de 2005. Auditório do HU/UFAL. Maceió-AL:

6) Participou do **60º Congresso da Sociedade Brasileira de Cardiologia e X Fórum de Nutrição em Cardiologia**. 18 a 21/09/2005. Centro de Eventos FIERGS, Porto Alegre – RS:

6.1 Apresentadora do tema livre pôster "Avaliação do potencial antioxidante da mangiferina (*mangifera Indica L*) via eletroquímica em meio lipofílico" Goulart, MOF, Moura MABF, Trevisan, MTS, Vasconcelos. SML

6.2 Apresentadora do tema livre pôster "Caracterização de uma amostra de hipertensos segundo consumo de frutas e vegetais, obesidade, glicemia e perfil lipídico"

7) Organizou e ministrou palestra no **II Simpósio Nacional de Hipertensão Arterial**, realizado pelo departamento de Hipertensão da SBC (Sociedade Brasileira de Cardiologia) – AL. 13 a 15/10/ 2005. Hotel Ritz Lagoa da Anta. Maceió-AL:

7.1 Conferência I: Cuidado Nutricional na HAS: Antioxidantes atenuam de fato?

7.2 Conferência II: O desafio no tratamento não medicamentoso da HAS: Como eu prescrevo a dieta para o hipertenso?

8) Ministrou a palestra/oficina "**Dieta para Hipertensos**" para pacientes do PAM Salgadinho. 20/10/2005. Auditório do PAM Salgadinho, Maceió – AL.

9) Ministrou a palestra/oficina "**Dieta para Diabéticos**" para pacientes do PAM Salgadinho. 10/11/2005. Auditório do PAM Salgadinho, Maceió – AL.

10) Publicações

10.1 Vasconcelos, SML; Moura, MABF; Goulart, MOF. Avaliação do potencial antioxidante da mangiferina (*mangifera Indica L*) via eletroquímica em meio lipofílico. **Arq. Bras. Cardiol.** 85:SIV, 172. 2005 /Apresentado ao 60º CONGRESSO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA, Porto Alegre, 2005 – resumo/

10.2 Vasconcelos, SML; Oliveira, AC; Sampaio, BGB; Omena, CMB; Vieira, EDF; Costa, GQ; Melo, JL; Moreira, MA; Rocha, NV; Jesus, TCL. Caracterização de uma amostra de hipertensos segundo consumo de frutas e vegetais, obesidade, glicemia e perfil lipídico. **Arq. Bras. Cardiol.** 85:SIV, 171. 2005 /Apresentado ao 60 CONGRESSO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA, Porto Alegre, 2005 – resumo/

Ano de 2006

1) Participou das **bancas examinadoras** dos 6 TCCs sob sua orientação (ver atividades 2005/2006), bem como dos TCCS abaixo relacionados (avaliados em abril de 2006):

a) "Produtos de glicação avançada (AGEs) na alimentação e as complicações crônicas do diabetes"

b) "Cálcio: uma revisão"

2) Apresentou os **resultados da pesquisa de tese de doutorado para os pacientes** estudados "Análise de Biomarcadores de Balanço Redox em Portadores de Hipertensão Arterial Primária: Uma Avaliação Segundo Técnicas Bioquímicas, Cromatográficas e Espectrofotométricas". Aud. HU-UFAL. 23/04/2006

3) Membro da comissão julgadora de temas livres de nutrição em cardiologia para o **61º Congresso da Sociedade Brasileira de Cardiologia**, a ser realizado em outubro de 2006, em Recife. Avaliados em Maio de 2006.

4) Participou do **Curso de SPSS**, realizado na disciplina Bioestatística do Mestrado em Ciências da Saúde – UFAL, com carga horária de 16 horas, em Maio de 2006.

5) Ministrou o módulo "Estresse oxidativo e defesa antioxidante" na disciplina **Bioquímica do Programa de Pós Graduação em Nutrição, da Faculdade de Nutrição – UFAL**. 17/05 e 14/06/2006.

6) Organizou e participou do **XXVI Congresso Norte-Nordeste de Cardiologia e IV Jornada Alagoana de Nutrição em Cardiologia**. 08 a 10/06/2006. Centro de Exposições, Maceió – AL;

6.1 Realização da jornada de nutrição mediante projeto de auxílio a organização de reunião científica - FAPEAL, processo 200060331546-1

6.2 Conferência I: "Selênio, selenoproteínas e proteção cardiovascular".

6.3 Conferência II: "Efeito de fatores dietéticos na oxidação de partículas de LDL".

6.4 Orientação dos temas livres apresentados por alunas de nutrição

6.4.1 "Perfil lipídico e antropométrico de hipertensos e diabéticos do município de Flexeiras-AL"

6.4.2 "Perfil clínico-nutricional de pacientes portadores de Diabetes mellitus"

6.4.3 "Consumo de frutas, verduras e legumes, em uma população de hipertensos e diabéticos do município de Flexeiras – AL"

6.4.4 "Principais fontes lipídicas na dieta de uma população hipertensa dislipêmica da zona da mata alagoana"

6.4.5 "Fontes de carboidratos na dieta de uma população hipertensa dislipêmica da zona da mata alagoana"

6.4.6 "Consumo de charque e impacto das técnicas culinárias de dessalga adotadas por uma população de hipertensos"

6.4.7 "Consumo de alimentos processados em uma população de hipertensos e diabéticos do município de Flexeiras – AL"

6.4.8 "Avaliação da reserva de gordura de indivíduos não-obesos através da bioimpedância elétrica e das dobras cutâneas"

6.4.9 "Perfil da ingestão de fibra dietética em uma população de hipertensos e diabéticos portadores de dislipidemias"

6.4.10 "Prevalência de Síndrome Metabólica em hipertensos de um município da zona da mata alagoana"

7) Ministrou aula sobre "Estresse oxidativo e defesa antioxidante" na disciplina **Introdução à Nutrição Clínica do Curso de Graduação em Nutrição, da Faculdade de Nutrição – UFAL**. 20/06/2006.

8) **Co-orientação de projeto de dissertação de mestrado (Programa de Pós Graduação em Nutrição, da Faculdade de Nutrição – UFAL); "Análise dos diterpenos cafestol e kawool em café segundo técnicas de preparo e associação da sua ingestão com o perfil lipídico de hipertensos e/ou diabéticos de Flexeiras – AL" da mestranda Fabiana Accioly de Lima, 2006/2008.**

9) Publicações

9.1 Vasconcelos, SML; Tatsuo Kubota, LT; Moura, JBF; Manfredini, V; Benfato, MS; Goulart, MOF. Espécies reativas de oxigênio e de nitrogênio, anti-oxidantes e marcadores de dano oxidativo em sangue humano: principais métodos analíticos para sua determinação. **Química Nova**. 2006 (submetidas, reenviadas após correções, aguardando parecer final)

9.2 Vasconcelos, SML; Silva, MAM; Goulart, MOF. Pró-antioxidantes e antioxidantes de baixo peso molecular oriundos da dieta: estrutura e função. **Nutrire**. 2006. Aceito CN278.

10) Apresentações em congressos aprovadas

Avaliação do sistema enzimático antioxidante em sangue de portadores de hipertensão arterial sistêmica primária. **SML VASCONCELOS**, MOFG GOULART, MAM SILVA, MS BENFATO, V MANFREDINI, G FONTES, MAA OLIVEIRA. TL oral n. 648. 61º. Congresso Brasileiro de Cardiologia e XXII Congresso Sul-americano de Cardiologia. 21 a 25/10/2006. Recife-PE

Ano de 2005/2006

1) Aprovação (Edital MS/CNPq/SESAU-AL/FAPEAL – N° 001/2004), execução e apresentação de resultados parciais do **projeto de pesquisa para o SUS** "Hábitos alimentares e estado nutricional de hipertensos e diabéticos. uma contribuição às ações de controle de fatores de risco cardiovascular do HIPERDIA – MS do Município de Flexeiras – AL"

2) Orientação dos trabalhos de Conclusão de Curso (TCCS), realizados dentro do projeto supracitado:

2.1 Perfil lipídico e antropométrico de pacientes hipertensos e diabéticos do município de Flexeiras – AL (orientanda, Adriana Toledo de Paffer).

2.2 Perfil clínico-nutricional de pacientes portadores de diabetes mellitus, cadastrados no sistema HIPERDIA – MS e acompanhados pelo programa de saúde da família (PSF) no município de Flexeiras – AL (orientanda, Gabriela de Queiroz Costa).

2.3 Consumo de café e teor de diterpenos segundo método de preparo empregado em uma população de hipertensos (orientanda, Fabiana Accioly de Lima)

2.4 Consumo de charque e técnicas de dessalga adotadas por uma população de hipertensos (orientanda, Evla D'Arc Ferro)

2.5 Prevalência de síndrome metabólica em hipertensos de um município da zona da mata alagoana (orientanda, Alane Cabral de Oliveira)

2.6 Consumo de frutas, verduras e legumes em uma população de hipertensos e diabéticos do município de Flexeiras – AL (orientanda, Nailza Vítor da Rocha)