

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

“Polimorfismos nos genes da enzima glutathione peroxidase e biomarcadores do estado nutricional relativo ao selênio em população adulta de São Paulo.”

Janaina Lombello Santos Donadio

Dissertação para obtenção do grau de

MESTRE

Orientador:

Prof^ª. Tit. Silvia Maria Franciscato Cozzolino

São Paulo

2011

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

“Polimorfismos nos genes da enzima glutathiona peroxidase e biomarcadores do estado nutricional relativo ao selênio em população adulta de São Paulo.”

Janaina Lombello Santos Donadio

Dissertação para obtenção do grau de

MESTRE

Orientador:

Prof^ª. Tit. Silvia Maria Franciscato Cozzolino

São Paulo

2011

Janaina Lombello Santos Donadio

“Polimorfismos nos genes da enzima glutathiona peroxidase e biomarcadores do estado nutricional relativo ao selênio em população adulta de São Paulo.”

Comissão Julgadora

da

Dissertação para obtenção do grau de Mestre

Prof.a Titular Silvia Maria Franciscato Cozzolino

Orientador/presidente

1º. examinador

2º. examinador

São Paulo, _____ de _____.

Aos meus queridos e amados pais!

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, sem dúvidas, gostaria de agradecer imensamente aos meus pais, Pedro Roberto Donadio e Silvia de Sousa Santos. Muito obrigada, mãe! Valeu, paizão! Sem o apoio de vocês eu jamais teria essa chance única na vida de fazer um mestrado na USP, vivendo de bolsa, num país como o Brasil, estudando(trabalhando) mais do que eu jamais estudei(trabalhei) antes... Sei que é difícil pra vocês entenderem o que eu faço tanto no laboratório, até tão tarde em alguns dias, mas espero que vocês consigam entender que eu estou no meu lugar, e que sou apaixonada pelo meu trabalho.

Não tenho nem palavras para agradecer a minha querida orientadora, Professora Silvia Maria Franciscato Cozzolino. Prof, gostaria que a senhora soubesse que é uma honra pra mim ser sua aluna há tantos anos, e mais ainda gostaria de agradecer simplesmente por acreditar em mim, acreditar que sou capaz, mesmo com a minha vontade de abraçar e resolver os problemas do mundo... A senhora sempre consegue nos acalmar com o seu jeito de mãe, e colocar nossos pés no chão, para entendermos que as coisas vêm devagar, que é importante dar um passo de cada vez, e que devemos ir sempre em frente. Muito obrigada, professora!

Gostaria de agradecer imensamente aos Professores Eduardo Purgato e João Roberto de Oliveira Nascimento, por terem me recebido em seu laboratório lá do andar de cima, e terem me ensinado toda a base de biologia molecular que eu tenho hoje. Obrigada por todas as conversas que me fizeram sem dúvida uma aluna e uma pessoa melhor, e por toda paciência do mundo em me explicarem todas aquelas técnicas malucas de biomol...

Sem dúvida, sem vocês, voluntários, este trabalho não poderia ter sido realizado, então, muito obrigada pela atenção e interesse de todos vocês em participarem da nossa pesquisa.

Gostaria muito de agradecer ao meu parceiro de todas as horas, Fernando Valarelli Menezes, por todo seu carinho e por me ajudar tanto com as planilhas do Excel. Obrigada, lindo!

Com certeza, sem as minhas colegas do laboratório de Nutrição e Minerais, esse trabalho não seria o mesmo. Obrigada por todas as conversas em reuniões, nos corredores, na copa, por me

ajudarem nas análises de selênio, que nós sabemos como é difícil, por me ajudarem a lavar o material, que não é pouca coisa... enfim, obrigada por estarem sempre presentes!

Em especial, gostaria de agradecer a minha querida amiga Suzana Bressan, minha amiga mais polimórfica, que não está mais no laboratório, mas que sempre vai deixar saudade. Adorava nossas conversas na copa, amiga! E sei que com certeza um dia você volta pra fazer seu doutorado e estudar mais polimorfismos comigo!

Não poderia deixar de agradecer ao Prof Marcelo Macedo Rogero, por suas excelentes considerações para melhorar este trabalho, e sua disponibilidade de sempre sugerir inovações e novas abordagens. Muitíssimo obrigada, professor!

Gostaria também de agradecer a todos os colegas do Departamento de Alimentos e Nutrição Experimental, pelo bom humor de todos os dias, que tornam o ambiente sempre mais gostoso de trabalhar, obrigada pessoal!

Com certeza não poderia deixar de agradecer ao pessoal do Setor de Finanças, em especial Vanessa e Alan Ramos, por tomarem conta de todos os nossos processos.

Finalmente e mais importante, gostaria de agradecer à FAPESP pela concessão do auxílio à pesquisa e bolsa de mestrado, que foram fundamentais para a completa execução deste projeto.

Um espírito manifesta-se nas leis do Universo – um espírito vastamente superior ao do homem, e diante dele, nós, com nossos modestos poderes, só podemos nos sentir humildes. Dessa maneira, o trabalho científico leva a um sentimento religioso de um tipo especial.”

Albert Einstein (1879 – 1955)

RESUMO

DONADIO, J.L.S. “Polimorfismos nos genes da enzima glutathione peroxidase e biomarcadores do estado nutricional relativo ao selênio em população adulta de São Paulo.” 2011. 75f. Dissertação de Mestrado – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, 2011.

Na maioria das doenças crônicas não transmissíveis (DCNT), consideradas atualmente um sério problema de saúde pública, o estresse oxidativo contribui muito para suas complicações. O principal sistema antioxidante nos mamíferos é o da glutathione peroxidase. Estudos recentes destacaram a relação entre polimorfismos em genes de enzimas antioxidantes e risco para tais doenças. Contudo, como ainda são escassos os dados na literatura sobre a distribuição de diferentes polimorfismos em enzimas antioxidantes na população brasileira, este trabalho se propõe a correlacionar polimorfismos nos genes da glutathione peroxidase com os biomarcadores do estado nutricional relativo ao selênio em uma população adulta. O estudo foi realizado com 124 indivíduos de ambos os gêneros, com idade entre 20 a 50 anos, sem doenças hepáticas, cardiovasculares e câncer. Os participantes responderam um questionário de informações pessoais; o consumo alimentar foi avaliado por três registros alimentares; os marcadores do estado nutricional relativo ao selênio foram: concentração de Se eritrocitário, Se plasmático e atividade da GPx eritrocitária; e os polimorfismos supracitados foram identificados por PCR em Tempo Real. As médias encontradas para ingestão de Se, foi de 41,1 ug/d, para Se no plasma de 54,13ug/L, para Se no eritrócito 56,14ug/L e para atividade da GPx 40,15 U/gHb. Foi observada uma correlação moderadamente positiva entre o selênio no plasma e no eritrócito ($r = 0,604$). Separando as variáveis entre os gêneros, a média da atividade da GPx foi maior para as mulheres ($F = 43,5$ U/gHb e $M = 34,84$ U/gHb, $p < 0,05$). Separando as médias das variáveis bioquímicas entre os diferentes SNPs, só foi encontrada uma diferença significativa para o Se eritrócito e atividade da GPx no SNP Arg5Pro no gene da GPx1, e para o Se plasma e Se eritrócito no SNP4 Pro126Leu no gene da GPx2. Para os outros SNPs, diferenças estatísticas só foram observadas quando as médias foram separadas pelos gêneros também, e as correlações foram influenciadas tanto pelos genótipos quanto pelo gênero. Os resultados mostrados neste estudo podem servir de evidência para destacar a importância em saber a constituição genética dos indivíduos nos estudos utilizando as variáveis Se plasmático, Se eritrocitário e atividade da GPx, como biomarcadores do estado nutricional relativo ao selênio.

Palavras-chave: selênio, polimorfismos, consumo alimentar, estado nutricional.

ABSTRACT

DONADIO, J.L.S. “ Polymorphisms Glutathione Peroxidase genes **and biomarkers of selenium nutritional status in healthy adults of São Paulo.**” 2011. 75f. Master’s degree Dissertation– Faculty of Pharmaceutical Sciences, University of São Paulo, 2011.

In the majority of non-communicable chronic diseases (NTCD), considered today a serious public health problem, the oxidative stress contributes much to its complications. The main antioxidant system in mammals is the glutathione peroxidase. Recent studies have highlighted the relationship between polymorphisms in antioxidant enzymes genes and risk for such diseases. However, as there are very few data in the literature on the distribution of different polymorphisms in antioxidant enzymes with the Brazilian population, this study proposes to correlate polymorphisms of glutathione peroxidase with biomarkers of selenium nutritional status in a healthy population. The study was conducted with 124 individuals of both genders, aged between 20 to 50 years, without liver disease, cardiovascular disease, and cancer. The participants answered a questionnaire of personal information; the food consumption was assessed by three feeding records; the markers of selenium nutritional status were: concentration of erythrocytes, plasma and erythrocyte GPx activity; the polymorphisms have been identified by Real Time PCR. The averages of selenium intake were of 41.1 ug/d, for plasma selenium concentrations 54.13 ug/L, for erythrocyte selenium concentrations 56.14 ug/L and for erythrocytes GPx activity 40.15 U/gHb. There was a positive moderately correlation between plasma selenium and erythrocyte selenium ($r = 0.604$). Separating the variables between genders, the average of the activity of the GPx was higher for women ($F = 43.5$ U/g Hb and $M = 34.84$ U/g Hb, $p < 0.05$). Separating the averages of biochemical markers between different genotypes, there was only a significant difference in erythrocyte selenium and GPx activity in Arg5Pro (GPx1 gene), and for plasma and erythrocyte selenium in Pro126Leu (GPx2 gene). For the other SNPs, statistical differences were only observed when means were separated by the gender, and the correlations were influenced by both genotypes and by gender.

Key-words: selenium, polymorphisms, nutritional intake, nutritional status.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	12
2	REVISÃO DA LITERATURA	16
2.1	O selênio	16
2.2	Era Pós-Genoma e polimorfismos	23
3	OBJETIVOS	29
3.1	Geral:	29
3.2	Específicos:	29
4	METODOLOGIA	30
4.1	Seleção da população e fluxograma	30
4.2	Coleta do material biológico	32
4.3	Biomarcadores do estado nutricional relativo ao selênio	33
4.3.1	Atividade da GPx eritrocitária	33
4.3.2	Avaliação do consumo alimentar	33
4.3.3	Determinação do selênio no plasma e eritrócitos	34
4.4	Seleção dos polimorfismos nos genes da enzima glutationa peroxidase (GPx)	34
4.5	Determinação dos polimorfismos nos genes da glutationa peroxidase	35
4.6	Análise Estatística	36
5	RESULTADOS	38
5.1	Caracterização da população	38
5.2	Avaliação do consumo alimentar	38
5.3	Biomarcadores do estado nutricional relativo ao selênio	40
5.4	Polimorfismos nos genes que codificam a enzima Glutationa Peroxidase (GPx)	43
5.4.1	GPx1 – Pro198Leu, Arg5Pro e G-602A	44
5.4.2	GPx2 e GPx4 : Pro126Leu e C718T	51
6	DISCUSSÃO	56
7	CONCLUSÕES	63
8	BIBLIOGRAFIA	64
9	ANEXOS OBRIGATÓRIOS	73

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1** - Lista dos polimorfismos selecionados para o estudo. _____ 37
- Tabela 2** - Distribuição de macronutrientes e selênio obtidas por registros alimentares de 3 dias, São Paulo, 2011. _____ 39
- Tabela 2** - Distribuição dos biomarcadores* relacionados ao selênio, São Paulo, 2011. _____
- Tabela 4** - Frequências dos genótipos para os diferentes SNPs nos genes da GPx, São Paulo, 2011. _____ 44
- Tabela 5** - Média das variáveis Se plasma, Se eritrócito e atividade da GPx separadas entre os diferentes genótipos para os SNPs Pro198Leu, Arg5Pro e G-602A no gene da GPx1, São Paulo, 2011. _____ 45
- Tabela 3** - Média das variáveis Se plasma, Se eritrócito e atividade da GPx separadas entre os diferentes gêneros e genótipos para os SNPs (A)Pro198Leu, (B)G-602A e (C) Arg5Pro no gene da GPx1, São Paulo, 2011. _____
- Tabela 4** - Média das variáveis Se plasma, Se eritrócito e atividade da GPx separadas entre os diferentes genótipos para os SNPs Pro126Leu e C718T, São Paulo, 2011. _____
- Tabela 8** - Média das variáveis Se plasma, Se eritrócito e atividade da GPx separadas entre os diferentes genótipos para os SNPs Pro126Leu e C718T, São Paulo, 2011. _____ 54

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Sistema antioxidante enzimático. _____	14
Figura 2 - Distribuição de macronutrientes em relação a porcentagem do VET obtida através de registros alimentares de 3 dias, São Paulo, 2011. _____	40
Figura 3 - Concentração de Se no plasma, Se no eritrócito e atividade da enzima glutationa peroxidase, São Paulo, 2011. _____	41
Figura 4 - Gráficos de dispersão para concentração de Se no plasma, Se no eritrócito e atividade da enzima glutationa peroxidase, São Paulo, 2011. _____	42
Figura 5 - Médias das concentrações de Se plasma, Se eritrócito e atividade da GPx, separadas entre os gêneros, São Paulo, 2011. _____	43
Figura 7 - Gráficos de dispersão das variáveis Se plasma e Se eritrócito separadas entre os diferentes genótipos para os SNPs (A)Pro198Leu, (B)G-602A e (C) Arg5Pro no gene da GPx1, São Paulo, 2011. _____	46
Figura 8 - Gráficos de dispersão das variáveis atividade da GPx e Se eritrócito separadas entre os diferentes genótipos para os SNPs (A)Pro198Leu e (B)G-602A no gene da GPx1, São Paulo, 2011. _____	47
Figura 9 - Média da atividade da GPx separada entre os diferentes gêneros e genótipos para os SNPs (A)Pro198Leu, (B) Arg5Pro e (C) G-602A no gene da GPx1, São Paulo, 2011. _____	49
Figura 10 - Gráficos de dispersão das variáveis Se plasma e Se eritrócito separadas entre os gêneros e genótipos para os SNPs Pro198Leu(A), Arg5Pro (B) e G-602A (C) no gene da GPx1, São Paulo, 2011. _____	50
Figura 11 - Média das variáveis Se plasma, Se eritrócito e atividade da GPx separadas entre os diferentes genótipos para os SNPs Pro126Leu e C718T, São Paulo, 2011. _____	51
Figura 14 - Médias da variável Se plasma separadas entre os gêneros e diferentes genótipos para o SNP Pro126Leu no gene da GPx2, São Paulo, 2011. _____	54
Figura 15 - Gráficos de dispersão das variáveis Se plasma e Se eritrócito separadas entre os gêneros e diferentes genótipos para os SNPs Pro126Leu (A) e C718T (B), São Paulo, 2011. _____	55

1 INTRODUÇÃO

As doenças crônicas não transmissíveis (DCNT) são consideradas um sério problema de saúde pública atualmente, atingindo todas as classes sociais. Segundo a Organização Mundial de Saúde, entram nesta classificação as doenças cardiovasculares, doenças respiratórias crônicas, diabetes *mellitus* e as neoplasias. Apesar de ocorrerem em todos os países, cerca de 80% das doenças aparecem em países de baixa e média renda. Atualmente, estas doenças são responsáveis por 60% dos óbitos no mundo e a projeção de óbitos para o ano de 2020 é de 73% (ACHUTTI & AZAMBUJA, 2004; BRASIL, 2008).

Na América Latina e no Caribe, as DCNT foram responsáveis por 44% dos óbitos em 2002. No Brasil, em 2001, estas doenças foram responsáveis por 62% das mortes e 39% das internações no SUS, Sistema Único de Saúde. A transição epidemiológica, caracterizada pela queda no número de óbitos por doenças infecciosas e aumento no número de óbitos por DCNT, e que vem ocorrendo no Brasil desde 1930, é um dos fatores que poderia explicar o fenômeno. Em nosso país, de 2002 a 2004, 74% dos óbitos foi decorrente de DCNT. Em 2005, 35 milhões de pessoas morreram no mundo por estas causas. Dados do Ministério da Saúde mostram que cerca de 1 bilhão de pessoas estão acima do peso e 338 milhões de pessoas morrerão de alguma doença crônica nos próximos 10 anos (ACHUTTI & AZAMBUJA, 2004; BRASIL, 2008).

Os principais fatores de risco para as DCNT podem ser classificados como “não modificáveis” (idade, sexo, predisposição genética) e “comportamentais”. Os fatores comportamentais envolvem aspectos relacionados à transição nutricional, caracterizada pelo excesso na oferta de alimentos ricos em açúcar, sódio e lipídios, facilidade de acesso a alimentos altamente calóricos e pouco nutritivos, e a queda na realização de atividade física. A adoção do estilo de vida ocidental, com hábitos como redução do consumo de frutas, verduras e legumes, sedentarismo, tabagismo e consumo crônico de álcool tendem a prejudicar a

situação. Nesse contexto, a alimentação destaca-se como o fator ambiental ao qual as pessoas estão continuamente expostas e, dessa forma, caracteriza-se como o mais importante para a redução do risco das DCNT (KAPUT & RODRIGUEZ, 2004; BRASIL, 2008).

A maioria destas doenças envolve alteração na homeostase do organismo, levando ao aumento do estresse oxidativo e, conseqüentemente, da produção de espécies reativas de oxigênio (ERO), como ânion superóxido, peróxido de hidrogênio e peróxido de lipídios. Algumas doenças que estão relacionadas com o estresse oxidativo são: artrite, aterosclerose, diabetes, câncer, cardiopatias, catarata, esclerose múltipla, inflamações crônicas, enfisema pulmonar (BIANCHI, 1999).

A peroxidação lipídica parece ter grande importância no estresse oxidativo no endotélio das artérias, contribuindo para o desenvolvimento de lesões ateroscleróticas, aumentando o risco de aterosclerose. A depleção das defesas antioxidantes ou aumento da produção de ERO podem desequilibrar o balanço antioxidante levando à injúria no tecido. O estresse oxidativo pode provocar uma série de desequilíbrios metabólicos, como quebra da dupla fita do DNA e aumento do Ca^{2+} intracelular, sendo que este último pode ativar proteases que danificam o citoesqueleto e nucleases que danificam o DNA (HALIWELL, 1993).

O sistema de defesa antioxidante pode atuar de duas maneiras: primeiro, como detoxificadora do agente oxidante antes que a lesão seja formada (Glutathione Reduzida, Superóxido Dismutase, Catalase, Glutathione Peroxidase), segundo, como reparador do dano ocorrido (Vitamina C, Glutathione Redutase, Glutathione Peroxidase) (FERREIRA, 1997).

O principal sistema de defesa do organismo contra os efeitos nocivos destas ERO é o enzimático, composto pela Catalase (CAT), Superóxido Dismutase (SOD) e Glutathione Peroxidase (GPx); sendo o da glutathione peroxidase o mais importante nos mamíferos. A figura 1 abaixo ilustra como é a inter-relação entre as enzimas do sistema antioxidante enzimático no nosso organismo. No primeiro contato da Glutathione Reduzida (GSH) com o agente oxidante, ela sofre uma oxidação a Glutathione Oxidada (GSSG), catalisada pela Glutathione Peroxidase, e

se o sistema estiver eficiente, ela será reduzida a GSH pela Glutathiona Redutase (FERREIRA, 1997; BLANKENBERG et al, 2003; AL-TAIE et al, 2004; HAMANASHI et al, 2004).

Na Figura 1, o radical superóxido formado pela cadeia de transporte de elétrons na respiração aeróbica, é dismutado a peróxido de hidrogênio (H_2O_2) pela SOD, dependente de zinco e cobre. Este composto, apesar de não ser um radical livre conceitualmente, é um metabólito altamente tóxico, e participa da formação do radical hidroxila ($OH\cdot$). O H_2O_2 é convertido em água e seus respectivos álcoois pela GPx, dependente de selênio, que para isso oxida a GSH em GSSG. Para que o sistema continue funcionando efetivamente, a glutathiona redutase reduz a GSSG a GSH.

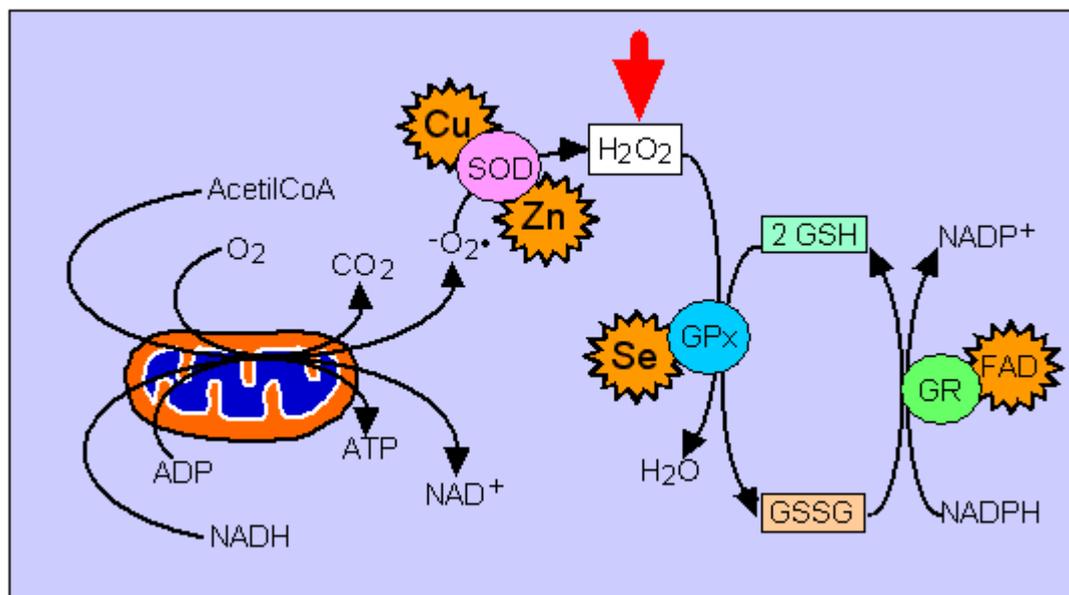


Figura 1 Sistema antioxidante enzimático.

(Fonte: <http://www.unifesp.br/dneuro/nexp/riboflavina/d.htm>)

As glutathiona peroxidases são enzimas que apresentam a selenocisteína (Sec) no sítio ativo e, portanto, a ingestão de selênio pode influenciar tanto a síntese quanto a atividade destas enzimas (BRIGELIUS-FLOHÉ, 1999; AL-TAIE et al, 2004). Existem 6 tipos de GPx, porém as mais relevantes do ponto de vista nutricional são: a GPx1 ou citossólica; a GPx2 ou

gastrintestinal; a GPx3 ou plasmática e a GPx4 ou hidroperóxido de fosfolipídios (KRYUKOV *et al*, 2003). Estas enzimas antioxidantes são fundamentais para equilibrar a produção de ERO, e qualquer alteração em sua estrutura e função pode levar ao aumento de tais compostos, e aumentar a susceptibilidade a algumas doenças.

Estudos recentes destacaram a relação entre polimorfismos em genes de enzimas antioxidantes, como Mn-Superóxido Dismutase (Mn-SOD) e glutathiona peroxidase, com o aumento do risco para câncer (RATNASINGLE, 2000; VILLETE, 2002; CAI, 2004; RAASCHOU, 2006; RAVN-HAREN, 2006; BERMANO, 2007; MÉPLAN, 2008; MIKAH, 2008; ARSOVA-SARAFINOVSKA, 2009; WANG, 2009; McATEE, 2010), diabetes *mellitus* e doença cardiovascular (HAMANASHI, 2004; NAKANISHI, 2008), síndrome metabólica (KUZUYA, 2008) e obesidade (MONTANO, 2009).

Outros estudos de forma semelhante, demonstraram a relação entre polimorfismos em selenoproteínas como a selenoproteína P (SePP), selenoproteína N (SePN), selenoproteína 15 (SeP15) e outras, com o risco para doença de Keshan (XIONG, 2010), câncer de próstata (COOPER, 2008), de pulmão (JABLONSKA, 2008), colo-retal (MÉPLAN, 2010; PETERS, 2008). Recentemente, um estudo brasileiro investigou a relação do polimorfismo Pro198Leu da GPx1 com danos no DNA e *status* de selênio em mulheres obesas (COMINETTI, 2011). Em outro trabalho, a frequência de diferentes polimorfismos em genes de enzimas antioxidantes em três grupos étnicos da população brasileira foi determinada, porém, os marcadores bioquímicos não foram acessados.

Portanto, como ainda são escassos os dados na literatura sobre a frequência de diferentes polimorfismos em genes de enzimas antioxidantes na população brasileira e sua relação com os marcadores bioquímicos, o presente trabalho se propõe a investigar a relação entre polimorfismos nos genes da glutathiona peroxidase e biomarcadores do estado nutricional relativo ao selênio em população adulta

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 O selênio

O selênio é um micronutriente essencial para a saúde humana. Classificado inicialmente como elemento tóxico, teve sua essencialidade comprovada em 1973, quando foi descoberto como componente fundamental da enzima glutathiona peroxidase. Ele entra na cadeia alimentar através da sua incorporação nas plantas, e a quantidade disponível no solo depende do tipo de rocha de origem. Solos de origem vulcânica e pH ácido tendem a ter o selênio menos biodisponível para as plantas (PAPP, 2007). Atualmente, é um dos minerais mais estudados em relação ao câncer, além de ter papel importante na função imunológica, ação antiinflamatória, fertilidade masculina, função tireoidiana e, principalmente, defesa antioxidante da célula (ROTRUCK, 1973; FLOHÉ *et al.*, 2000; HOLBEN, 1999; SUNDE, 1990; BURKE *et al.*, 2003; RAYMAN, 2005; RAYMAN, 2000; DRISCOLL, 2003; BROOME, 2004; HESKETH, 2008; WERZ, 1996; WEITZEL, 1993; VUNTA, 2007; CHEN, 2009, McKENZIES, 1998).

As funções biológicas do selênio são exercidas como constituinte do 21º aminoácido, a selenocisteína (Sec) presente nas 25 selenoproteínas conhecidas atualmente, sendo as principais: GPxs, Tioredoxina Redutases (TRs), Iodotironina Deiodinase (IDIs), SePP e outras selenoproteínas, com função ainda desconhecida, tais como: H, I, K, M, N, O, R, S, T, V, W e 15kDa (KRYUKOV *et al.*, 2003; LEI, 2007).

A glutathiona peroxidase citossólica (GPx1) foi a primeira a ser identificada. Em 1953, Mills descobriu a GPx1 no eritrócito, onde esta protegia a hemoglobina de danos oxidativos. A GPx1 é encontrada no citossol das células, sendo expressa em todos os tecidos. Esta enzima é sensível às alterações do selênio da dieta, sendo considerada um bom biomarcador do estado nutricional relativo ao selênio, principalmente em indivíduos com baixo *status* do mineral. Isso

porque em indivíduos consumindo grandes quantidades de selênio, a atividade da enzima atinge um platô, não aumentando mais sua atividade. Contudo, na deficiência e no estado nutricional marginal de selênio, a expressão gênica, concentração e atividade da GPx1 é mais sensível do que outras selenoproteínas, mostrando sua baixa posição na hierarquia de síntese das selenoproteínas quando o suprimento de selênio é marginal. O gene que codifica esta enzima está localizado no cromossomo 3, na região 3p21.3 (HOLBEN, 1999; BROWN, 2001; KRYUKOV, 2003; LEI, 2007; SCHOMBURG, 2009).

A glutathiona peroxidase gastrointestinal (GPx2) tem uma função antioxidante importante no cólon, protegendo essa região dos danos causados pela oxidação de hidroperóxidos de lipídios. Ela é expressa no fígado, bem como em todo o trato gastrointestinal. Foi observado que os níveis de RNAm da GPx2 permanece estável durante a deficiência de selênio *in vitro* em culturas de hepatócitos e, desta forma, supõe-se que o estado nutricional relativo ao selênio não afeta a transcrição deste gene, colocando-a em uma posição mais elevada na hierarquia na síntese de selenoproteínas. O gene desta proteína está localizado no cromossomo 14, região 14q24.1 e contém 2 exons e 1 íntron (WINGLER, 1999; BROWN, 2001; KRYUKOV, 2003).

A glutathiona peroxidase plasmática (GPx3) é uma glicoproteína com função extracelular, sendo expressa principalmente em células epiteliais dos túbulos proximais do rim (BRIGELIUS-FLOHÉ, 1999; IMAI, 2003). O gene desta proteína está localizado no cromossomo 5, região 5q33.1 (KRYUKOV, 2003). Jacobson *et al*, (2006), mostraram que a concentração de GPx plasmática está moderadamente associado com a concentração de selênio no plasma, e fumantes têm níveis menores da enzima quando comparado com indivíduos não fumantes.

A hidroperóxido de fosfolípídeo glutathiona peroxidase (GPx4) tem 3 isoformas as quais direcionam a enzima para o núcleo, mitocôndria e citossol, sendo diferente das outras glutathiona peroxidases por diversos fatores. Esta é uma proteína menor do que as outras e seu

tamanho reduzido implica na possibilidade de reagir com lipídios nas membranas celulares. A GPx4 não se restringe a usar apenas a glutatona como substrato, usando também vários tipos de hidroperóxidos, como de fosfolipídios, inclusive aqueles obtidos do colesterol e de ésteres de colesterol. No que concerne a sua distribuição tecidual, verifica-se que esta é expressa em todos os tecidos, principalmente nos testículos, e por isso é considerada importante para fertilidade masculina. A GPx4 também participa da regulação da biossíntese de leucotrienos: a síntese de leucotrienos depende da ativação de enzimas como a 5-lipoxigenase, ativada por hidroperóxidos de ácidos graxos, e ocorre na membrana nuclear, e assim, a isoforma nuclear da GPx4 pode ser crítica na quantidade de hidroperóxidos disponíveis para a ativação da 5-lipoxigenase. O gene desta enzima está localizado no cromossomo 19, região, 19p13.3 (BRIGELIUS-FLOHÉ, 1999; VILLETTE et al., 2002; IMAI, 2003; KRYUKOV, 2003; SAVASKAN, 2007, THOMAS, 1990).

A SePP foi a segunda selenoproteína descoberta. Ela é encontrada nos fluidos extracelulares, principalmente no plasma, e atualmente é um dos biomarcadores mais sensíveis do *status* de selênio, transportando de 50% a 70% do selênio plasmático. Diferentemente das outras selenoproteínas, a SePP contém 10 resíduos de Sec e é expressa principalmente no fígado, coração, rins e testículos. Sua função bioquímica ainda permanece desconhecida, mas estudos recentes mostram um papel antioxidante no meio extracelular, uma vez que a SePP pode reduzir hidroperóxidos de fosfolipídios assim como a GPx4, porém cem vezes mais lentamente. Portanto, pode-se atribuir a ela duas funções básicas: de transporte e de proteção antioxidante (BURK, 1994; FLOHÉ, 1999; HOLBEN, 1999; SAITO, 1999; TUJEBAJEVA, 2000; BURK, 2005; BECKETT, 2005; HESKETH, 2008).

Outras selenoproteínas importantes são IDI e TR. A primeira tem um papel importante no metabolismo dos hormônios tireoidianos, na conversão do pré-hormônio tetraiodotironina, mais conhecida como tiroxina (T4) em triiodotironina (T3), a forma biologicamente ativa do hormônio. A maior parte desta conversão é catalizada pela IDI-1. Existem outros dois tipos de

IDI's, agindo em órgãos como o fígado e o cérebro, cuja principal função é manter a homeostase dos hormônios tireoidianos tanto nos órgãos quanto no plasma (FLOHÉ, 2000; BROWN, 2001). A segunda, TR, tem a tioredoxina como substrato e usa NADPH como co-fator. Este forte sistema antioxidante participa de diversas funções, tais como: sinalização celular, regulação do crescimento e controle da apoptose. A tioredoxina estimula o crescimento celular normal e canceroso, e dessa maneira, um controle da atividade desta enzima poderia ajudar a combater algumas formas de câncer (BROWN, 2001; BECKETT, 2005).

Todas as selenoproteínas supracitadas necessitam de Sec incorporada na sua estrutura. O mecanismo molecular de síntese das selenoproteínas envolve uma estrutura celular complexa, com diversas estruturas envolvidas. Basicamente, a incorporação da Sec nas proteínas envolve a recodificação do códon UGA, o qual normalmente finaliza a tradução protéica (LOW, 1996; LOW et al., 2000). Na maioria dos RNAs mensageiros, o códon UGA sinaliza o término da síntese protéica, porém, nas selenoproteínas, este códon teve de ser recodificado, a fim de inserir o aminoácido Sec e, dessa forma, incorporar o selênio nas proteínas. Assim, esta recodificação implica na presença de um elemento de inserção de Sec, chamado SECIS (*Sec Insertion Sequence* ou Sequência de Inserção de Sec), localizada na região 3' não-traduzida (3'-UTR). Na maioria dos casos, a Sec está localizada no sítio ativo da enzima com função antioxidante (HESKETH, 2008).

Além deste elemento de inserção, a síntese das selenoproteínas ainda necessita de um RNA transportador específico para selenocisteína (RNAt [Ser]Sec), sintetizado a partir do selenido com a ajuda da enzima selenofosfato sintetase (SPS 2).



Outras proteínas de ligação de RNA ainda são necessárias para recodificar o códon UGA, como a Proteína de Ligação de SECIS, SBP 2 (*SECIS Binding Protein*), a qual liga o SECIS na estrutura da região 3' UTR, e se liga a um fator de alongamento chamado EFsec,

específico para selenocisteína, que compete com a proteína ribossomal L30 pela ligação no SECIS. Dessa maneira, para o selênio da dieta ser incorporado nas selenoproteínas, várias etapas são necessárias: síntese do RNAt-Sec a partir do selenido, transporte do Se do fígado para os tecidos-alvo e incorporação do Se nas selenoproteínas dependente de SECIS (LOW *et al.*, 2000; COPELAND *et al.*, 2001; HESKETH, 2008).

A regulação da síntese de selenoproteínas é dependente dos tecidos estudados, da selenoproteína específica e do gênero dos indivíduos. Não há uma regra geral na regulação de uma mesma selenoproteína em diferentes tecidos. Primeiramente, a concentração de selênio é variável nos tecidos, e cada um controla a expressão de selenoproteínas conforme o selênio disponível. Em uma condição de deficiência, o *status* de selênio no cérebro e órgãos endócrinos, como a tireóide por exemplo, é mantido, ocorrendo uma redução nas quantidades do mineral, nos rins, plasma e na atividade da GPx1. Em ratos, ocorre uma queda na fertilidade masculina em resposta a uma dieta deficiente em selênio, e foi observado que as fêmeas tendem a reter mais o mineral nos órgãos. Estudos em ratos *knock-out* para os genes da GPx4 e TR demonstraram a essencialidade destas selenoproteínas à vida, uma vez que os animais neste modelo experimental não conseguiram sobreviver. Neste contexto, foi proposto uma diferença na classificação das selenoproteínas: a GPx4 e TR seriam selenoproteínas *housekeeping* (controle) e a GPx1, 2, 3 e SePP seriam selenoproteínas relacionadas à resposta ao estresse (SCHOMBURG, 2009). A deficiência de selênio não afeta as selenoproteínas da mesma maneira. Alguns trabalhos mostram que a TR1 é mais sensível à depleção de selênio do que a TR2; em células do cólon de ratos, a deficiência de selênio alterou bastante a expressão de GPx1, mas não de GPx2. A GPx4 e a GPx2 são menos sensíveis às alterações na disponibilidade de selênio, o que faz com que elas tenham preferência na síntese quando o suprimento do mineral é limitante. Em ratos deficientes em selênio, a atividade da IDI caiu 90% no fígado, mas aumentou na tireóide; a expressão de TR1 caiu mais no fígado do que nos rins, e a atividade da GPx4 caiu no fígado e no coração, porém se manteve na tireóide

(HESKETH, 2008). Estes dados mostram que a expressão gênica e a atividade das enzimas no fígado são os primeiros a serem afetados em uma situação onde há pouco selênio disponível.

A deficiência de selênio em humanos é restrita a determinadas regiões nas quais o solo é pobre no mineral e a alimentação da população é baseada no consumo local (PAPP, 2007). Ela aparece quando a ingestão é abaixo de 11 µg/d. As manifestações clínicas da deficiência de selênio, conhecidas como Doença de Keshan e Doença de Kashin-Beck, são observadas principalmente na população residente na província de Sichuan, na China, entretanto outras regiões da China, Ásia e África também registraram casos da doença. A Doença de Keshan é uma cardiomiopatia cujos sinais clínicos incluem degeneração dos músculos, cardiomegalia, isquemia do miocárdio e edema pulmonar. A doença de Kashin-Beck é uma osteoartropatia nas cartilagens em crescimento levando a um prejuízo no desenvolvimento ósseo. Ela afeta principalmente crianças e adolescentes com idade entre 5 e 13 anos, sendo registrada na China, Rússia e Israel. A doença de Kashin-Beck provoca deformidade e alargamento das articulações, com degeneração e necrose da cartilagem hialina do osso, levando a baixa estatura em seus portadores (GONZAGA, 2009; XIA, 2005; XIONG, 2010).

Relatos da intoxicação por selênio foram observados em Enshi, a oeste de Shangai, na China, nos anos de 1961 e 1964, devido ao consumo de milho com manchas de coloração *pink* as quais foram identificadas como sendo pontos de concentração de selênio elementar. Os sinais de toxicidade ocorrem quando a ingestão é superior a 800 µg/d, sendo os órgãos mais afetados: unhas, cabelos, dentes, pele, sistema nervoso e trato gastrointestinal. Os primeiros sinais clínicos são a perda de cabelo e das unhas (YANG, 1983; GONZAGA, 2009;).

As principais fontes de selênio são grãos integrais, carnes e pescados, destacando-se a castanha-do-brasil (*Bertholletia excelsa*, família Lecythidaceae) como a melhor fonte do mineral. Trabalhos brasileiros indicam concentrações variando de 23 a 290 µg por unidade de castanha (ROCHA, 2009; STOCKLER-PINTO, 2009). Ferreira, *et al*, 2002, analisaram

diversas fontes de selênio na dieta da população brasileira, comprovando que alimentos como feijão preto, ovos, pescados, carnes e grãos integrais são boas fontes do mineral.

Diversos estudos vêm destacando a castanha-do-brasil como uma excelente fonte do mineral e sua possibilidade em contribuir para melhorar o estado nutricional relativo ao selênio de diversas populações no mundo. Trabalhos brasileiros mostram resultados indo na mesma direção, ou seja, a suplementação com castanha-do-brasil melhora o estado nutricional de diferentes populações. Coutinho, 2003 observou após a suplementação de adultos capoeiristas, um aumento dos marcadores Se plasmático de 78,96ug/L para 150ug/L, Se eritrocitário de 118,44 ug/L para 228,98 ug/L e Atividade da GPx de 27,3 U/g Hb para 68,5 U/g Hb. Em uma população de mulheres idosas, a suplementação com castanha-do-brasil aumentou o Se plasmático de 73,0ug/L para 109ug/L, Se eritrocitário de 45,0 ug/L para 148,0 ug/L (BEHR, 2004). O estado nutricional relativo ao selênio de mulheres adultas obesas também foi melhorado após a suplementação com castanha-do-brasil, conforme mostram os dados do trabalho de Cominetti, 2009. A autora observou um aumento de 55,7 ug/L para 132,5 ug/L no Se plasmático, para o Se eritrocitário os valores de 60,5 ug/L para 205,9 ug/L e a atividade da GPx foi de 36,6 U/g Hb para 53,6 U/g Hb. Em pacientes realizando hemodiálise, esse aumento também foi muito significativo para o Se plasmático e eritrocitário. Os valores antes da suplementação eram de 18,8 ug/L para Se plasmático e 72,4 ug/L para Se eritrocitário, e após a suplementação com castanha-do-brasil, os valores subiram para 104 ug/L e 244,1 ug/L , respectivamente (STOCKLER-PINTO, 2009)

Em trabalhos internacionais, a maioria dos estudos são conduzidos utilizando suplementos na forma inorgânica, principalmente na forma de selenito de sódio. Entretanto, um estudo utilizando castanha-do-brasil e selenometionina como fonte de aproximadamente 100ug de selênio em voluntários na Nova Zelândia, mostrou que a castanha é mais eficiente do que a selenometionina em aumentar a concentração de parâmetros bioquímicos, como o Se plasmático e atividade da GPx eritrocitária (THOMPSON, 2008).

A recomendação de ingestão do mineral, proposta pelo Institute of Medicine dos EUA, é baseada na quantidade de selênio necessária para levar a atividade da GPx no plasma ao seu nível máximo. Ainda não há um consenso na comunidade científica se este é o melhor parâmetro bioquímico, uma vez que outros biomarcadores como Se plasmático, atividade da GPx eritrocitária são bem sensíveis ao selênio da dieta, ou se a atividade máxima da enzima é necessária para uma saúde ótima (DUFFIELD, 1999). Entretanto, no Brasil as referências utilizadas para ingestão de nutrientes são as propostas pelo IOM. A recomendação para adultos é de 45µg e 55µg considerando EAR e RDA, respectivamente (IOM, 2005).

2.2 Era Pós-Genoma e polimorfismos

A descoberta da estrutura dupla hélice do DNA, em 1953, por James Watson e Francis Crick alterou profundamente o foco das pesquisas científicas. A partir desta descoberta foi possível propor o sequenciamento completo do genoma humano, em 1985. Entretanto, somente em 1990, o Projeto Genoma Humano foi iniciado oficialmente nos Estados Unidos, com a duração de 15 anos, tendo como principais países envolvidos EUA, França, Inglaterra e Japão. O maior objetivo do projeto era compilar uma lista de todos os genes conhecidos e suas proteínas codificadas, servindo de base para pesquisas biomédicas (VENTER *et al.*, 2001; LANDER *et al.*, 2001).

Venter e colaboradores em 2001, começaram a mostrar os resultados deste imenso trabalho. O tamanho do genoma é de 2.66 Gpb sem *gaps*; existe aproximadamente 54% de bases A e T, e, 38% de bases C e G; o total de genes descobertos somam aproximadamente 30.000 (bem menos do que os 50.000 a 100.000 genes estimados); genes com função conhecida somam 26.383; genes com função desconhecida somam 12.809; o cromossomo com maior quantidade de genes é o 19; os cromossomos com menor quantidade de genes são o 13 e o Y; polimorfismos somam 1 a cada 1250 pb. As funções moleculares mais frequentes são

relativas a: fatores de transcrição, metabolismo de ácidos nucléicos, receptores, quinases e hidrolases.

Posteriormente ao sequenciamento do genoma humano, dados comparativos dos genomas surgiram e diversas mutações foram descobertas. Os polimorfismos aparecem como consequência de mutações, e as diferentes classificações são definidas dependendo da mutação original. A categoria mais básica de polimorfismo é originada de uma mutação simples, modificando um nucleotídeo por outro, e foi chamada de SNP, do inglês “*single nucleotide polymorphism*”, ou polimorfismo de nucleotídeo único. Anteriormente, esse tipo de polimorfismo era definido com base na técnica usada em sua identificação: “*restriction fragment length polymorphism*”, RFLP, onde enzimas de restrição eram usadas para distinguir os diferentes alelos, hidrolizando o DNA e resultando em fragmentos de tamanhos diferentes, vistos por eletroforese (SCHORK, *et al*, 2000). Neste caso, o alelo de interesse tem um sítio de reconhecimento para uma certa endonuclease e o outro não, e por isso são formados fragmentos de tamanhos diferentes, possíveis de se visualizar na eletroforese (PASTERNAK, 2005).

Outros tipos de polimorfismos resultam de inserção ou deleção de pedaços de DNA. O tipo mais comum de polimorfismo de inserção/deleção é o de bases repetidas e padrão de nucleotídeos repetidos em uma região do DNA. O padrão de nucleotídeos repetidos é conhecido como VNTRs, “*Variable Number of Tandem Repeats*” ou minisatélites, e o de bases repetidas, que podem ser duas, três ou quatro bases, é chamado de STRs, “*Simple Tandem Repeats*” ou microsatélites (SCHORK, *et al*, 2000).

Os SNPs são alterações em uma base do DNA onde o alelo menos frequente (variante) ocorre em 1% ou mais de indivíduos normais em uma população. Estima-se que a frequência de ocorrência dos SNPs seja de 1 a cada 1000 pares de bases, e portanto, é a variação mais frequente entre os indivíduos (BROKES, 1999). Os SNPs podem estar localizados em várias regiões do gene: promotora, codificadora (éxons) e não codificadora (região 5´ não-traduzida

no começo do gene, íntrons no meio do gene, e 3' não-traduzida no final do gene) e dependendo da região onde ocorrem podem interferir mais no fenótipo (SYVÄNEN, 2001). SNPs na região promotora e codificadora têm maior probabilidade de modificar o funcionamento do gene e conseqüentemente da proteína formada. Se estes polimorfismos ocorrerem em genes que codificam enzimas antioxidantes, por exemplo, podem aumentar o risco para DCNT, como doença cardiovascular e diabetes *mellitus* (WANG, 2001; KAUWELL, 2005).

Entretanto, a maioria dos SNPs está nas regiões não-codificadoras dos genes e por isso não causam alterações do fenótipo, ou seja, não causam mudanças observáveis nos indivíduos. Dessa forma, estes SNPs são utilizados como marcadores em genética de populações (SYVÄNEN, 2001). Muitos SNPs estão sendo catalogados em grande escala (por exemplo, pelo consórcio internacional *HapMap Project*) e mapeados para uso na identificação de genes que contribuem com a incidência de doenças. A relação entre incidência de doenças, genética de populações e SNP está estruturada no conceito de haplótipos e desequilíbrio de ligação ou LD (*Linkage Disequilibrium*). Haplótipos são combinações específicas de alelos de um mesmo gene que ocorrem em uma população. A maioria dos SNPs surgiu por uma mutação ocorrida em um locus do cromossomo há muitos anos e essa região com seus alelos vizinhos, ou este haplótipo, tende a se manter intacto ao longo das gerações. Nesta situação, na qual o novo alelo e outros polimorfismos vizinhos tendem a ser herdados juntos, define-se um forte desequilíbrio de ligação (GABRIEL, 2002; BROOKES, 1999). Sendo assim, se neste haplótipo estiver um alelo para uma doença, e houver um forte desequilíbrio de ligação, a identificação de apenas um SNP no grupo de alelos é suficiente como preditor da existência dos outros, e portanto do risco para a doença (PASTERNAK, 2005).

Um elevado número de mutações não apresenta conseqüências funcionais por diferentes motivos: por ocorrerem nos íntrons, por não causarem alteração de aminoácido na sequência da proteína ou porque a modificação de aminoácido não tem efeito, nem função.

Consequentemente, o maior desafio da atualidade é identificar polimorfismos que em conjunto ou isoladamente alterem o metabolismo e a função das proteínas. Em relação às selenoproteínas, polimorfismos na região codificadora do gene (*non-synonymous* SNP, nsSNP) e na região 3'UTR podem, respectivamente: alterar o aminoácido na tradução da proteína (RAMENSKY *et al*, 2002) e alterar a incorporação do selênio nas proteínas e, por isso, seu estudo é de fundamental importância (HESKETH, 2008).

Os nsSNP tendem a ser prioridade na identificação de polimorfismos com consequências funcionais, uma vez que podem alterar a sequência de aminoácidos da proteína e, consequentemente, alterar sua função biológica. Iida *et al*. 2009, identificaram 11 nsSNP nos 4 genes da glutathione peroxidase. Destes, o mais importante foi o Pro198Leu da GPx1 (rs1050450), por ser o único polimórfico nos três grupos étnicos genotipados. Diversos estudos sugerem a associação deste polimorfismo com o aumento do risco de alguns tipos de cânceres, como de pulmão (MOSCOW *et al*, 1994) e de mama (RAVN-HAREN *et al*, 2006), e também a sua relação com a defesa antioxidante do endotélio (HAMANASHI *et al*, 2004). SNPs na região codificadora do gene da GPx1 também podem estar relacionados com maior risco para aterosclerose (IIDA *et al*, 2009). Em um trabalho realizado com homens fumantes na Finlândia, os genótipos CT e TT estavam associados com um risco 80% e 130% maior de câncer no pulmão do que o genótipo CC, respectivamente (RATNASINGLE, 2000).

Contudo, os dados investigando a relação entre o polimorfismo Pro198Leu no risco para alguns tipos de cânceres, ainda são controversos. Em um estudo em pacientes com câncer de mama, os autores não encontraram associação entre o genótipo variante e o aumento do risco para o câncer (AHN, 2005). Em outro trabalho, o alelo variante foi associado com menor risco para câncer de próstata (ARSOVA-SARAFINOSKA, 2009). Em um estudo conduzido na Dinamarca, a variante T foi associada com menor risco para câncer de pulmão. Entre as mulheres, o genótipo variante TT foi associado com um risco 65% menor de câncer de pulmão (RAASCHOU-NIELSEN, 2006).

Hamanashi *et al*, 2004 estudaram a relação entre quatro polimorfismos na GPx1 e maior risco para desenvolvimento de aterosclerose em japoneses com diabetes *mellitus* tipo 1. Eles observaram que os quatro polimorfismos estudados (rs1050450, rs3811699, rs1800668 e Ala5/Ala6) estavam em um forte desequilíbrio de ligação, ou seja, faziam parte do mesmo haplótipo e por isso, empregaram o SNP Pro198Leu como marcador clínico. O espessamento da íntima média das carótidas e a prevalência de doença cardiovascular e de doença vascular periférica foi significativamente maior nos pacientes com genótipo Pro/Leu do que no grupo Pro/Pro, indicando que a presença do alelo para leucina leva ao aumento do risco de aterosclerose. Além disso, em estudo *in vitro* verificou-se que a presença de dois polimorfismos na região codificadora do gene da GPx1 diminui 40% a atividade desta enzima, e a combinação de outros dois (rs3811699 e rs1800668) diminui a transcrição em 25%. Portanto, esses polimorfismos na GPx1 podem ser fatores de risco para o desenvolvimento de aterosclerose em indivíduos japoneses com diabetes *mellitus* tipo 1.

As alterações na sequência de aminoácidos decorrentes da presença de polimorfismos podem prejudicar a função das proteínas, alterando os sítios de interação, solubilidade e estabilidade da proteína. Uma maneira de descobrir se as alterações são prejudiciais seria utilizar *softwares* de predição de função baseado na estrutura protéica, como o PolyPhen, disponível *online* pela Universidade de Harvard (<http://genetics.bwh.harvard.edu/pph/>). Este *software* utiliza o número da proteína da base de dados UniProt (<http://www.uniprot.org/>), a posição onde ocorre a troca dos aminoácidos e os respectivos aminoácidos trocados para predizer se a alteração é prejudicial ou não. Maiores detalhes sobre o *software* podem ser lidos em Ramensky *et al*, 2002.

Um número limitado de estudos avaliaram polimorfismos na região 3'UTR nos genes da GPx que poderiam ter consequências funcionais. Um polimorfismo C/T foi encontrado na região 3'UTR do gene da GPX4 (rs713041) na posição 718, próximo ao elemento SECIS. Os estudos com este SNP ainda são escassos e os resultados inconclusivos. Villette, *et al*, 2002,

observou que o alelo C é mais frequente em pacientes com câncer colo-retal, e estimula a atividade da enzima 5-lipoxigenase (5-LOX), sendo que as concentrações de metabólitos da 5'-lipoxigenase foram maiores no genótipo CC quando comparados com os genótipos CT e TT, comprovando a participação da GPx4 no metabolismo de leucotrienos. Em contrapartida, em outro estudo de associação entre o polimorfismo e risco para câncer de cólon, o genótipo TT esteve associado a um menor risco deste tipo de câncer (BERMANO et al., 2007). Méplan, et al, 2008, observou que este SNP também afetou a resposta a suplementação de Se em indivíduos saudáveis: a atividade da GPx4 no genótipo TT reduziu significativamente no *washout* (período pós-suplementação). Além disso, mulheres com o genótipo TT apresentaram concentrações inferiores de GPx1 (linfócitos) antes e após a suplementação, ocorrendo uma diminuição significativa da atividade da GPx1 duas semanas após o término da suplementação. Assim, este estudo mostrou a influência do genótipo em um biomarcador do estado nutricional relativo ao selênio, no caso a atividade da GPx1, em mulheres saudáveis após a suplementação (HESKETH, 2008).

Todavia, a maioria dos trabalhos investigando a relação entre os SNPs nos genes da enzima GPx com a saúde são conduzidos avaliando o risco para o desenvolvimento de doenças como câncer de pulmão, de mama, de próstata, diabetes, DCV. Poucos estudos são conduzidos em população saudável, investigando como os SNPs podem afetar os biomarcadores do estado nutricional relativo ao selênio, como Se plasmático, Se eritrocitário e atividade da GPx. Portanto, com base nos dados da literatura levantada, o presente trabalho se propõe a investigar a relação entre polimorfismos nos genes da glutathione peroxidase e biomarcadores do estado nutricional relativo ao selênio em população adulta de São Paulo.

3 OBJETIVOS

3.1 *Geral:*

- Avaliação da relação entre polimorfismos nos genes da enzima GPx e biomarcadores do estado nutricional relativo ao selênio em população adulta de São Paulo.

3.2 *Específicos:*

- Determinar o estado nutricional relativo ao selênio de indivíduos adultos;
- Avaliar a ingestão alimentar de selênio de indivíduos adultos;
- Determinar cinco polimorfismos no gene que codifica a GPx1, dois polimorfismos no gene da GPx2, um polimorfismo no gene da GPx3 e um polimorfismo no gene da GPx4;

4 METODOLOGIA

4.1 Seleção da população e fluxograma

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da USP, sob o protocolo CEP/FCF/524, conforme anexo.

A população para o estudo foi de indivíduos saudáveis, de ambos os gêneros, com idade de 20 a 50 anos, selecionada na Universidade de São Paulo. Para escolher os participantes, cartazes foram espalhados em diferentes locais da Universidade nos meses de março e abril de 2010. Os critérios de inclusão foram: 1) não ingerir suplementos vitamínicos e minerais; 2) não tomar antiinflamatórios; 3) não ser atleta de elite, 4) não consumir álcool cronicamente e 5) não apresentar doenças hepáticas, cardiovasculares, diabetes *mellitus* e câncer.

Aos voluntários que estavam dentro destes critérios foram entregues os documentos, os quais constavam o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, o Questionário de Informações Pessoais, uma Orientação sobre como preencher os registros alimentares e a planilha para preencher os registros. Os formulários foram entregues aos interessados para serem preenchidos e devolvidos no dia da coleta do material biológico. As atividades realizadas durante o projeto podem ser visualizadas no fluxograma abaixo.



Fluxograma das atividades previstas durante a realização do projeto.

4.2 Coleta do material biológico

As coletas do material biológico foram realizadas nos meses de março, abril e julho de 2010, no Laboratório de Nutrição e Minerais do Departamento de Alimentos e Nutrição Experimental da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da USP. Foi solicitado que todos os voluntários realizassem jejum de 10h a 12h, e comparecessem ao laboratório entre 8h e 11h da manhã.

As amostras foram coletadas utilizando seringas de 20 mL e agulhas descartáveis. Foram coletados 15mL de sangue, para análise de Se no plasma, eritrócito, atividade da GPx e genotipagem. Após a coleta, o material foi imediatamente processado em centrífuga refrigerada, modelo 5804-R (*Eppendorf*) para separação do plasma e eritrócitos.

O material biológico foi coletado em tubos com anticoagulante EDTA para análise de selênio. Uma alíquota de 1,5mL do sangue total foi separada em microtubos autoclavados para a posterior extração do DNA genômico para análise dos polimorfismos. O restante do material biológico foi transferido para tubos Falcon de 15 mL para a separação do plasma e eritrócito. O sangue total foi centrifugado primeiramente a $1157 \times g$ por 15 minutos a 4°C para separação do plasma. Ao eritrócito foi adicionado 5 mL de solução salina a 0,9% e centrifugado a $3700 \times g$ por 10 minutos a 4°C , sendo este procedimento realizado três vezes. Após a total separação do material, as amostras foram devidamente transferidas para microtubos de 2,0mL e armazenados em freezer -80°C . Todo o material necessário foi previamente desmineralizado em solução de ácido nítrico 20%, por no mínimo 12 horas e enxaguado 10x em água nanopura, para controle de contaminação por minerais.

4.3 Biomarcadores do estado nutricional relativo ao selênio

4.3.1 Atividade da GPx eritrocitária

A determinação da atividade da GPx foi realizada no eritrócito com o auxílio de kits comerciais (Ransel 505 – RANDOX Laboratories, Crumlin/UK) adaptados para o uso em analisador bioquímico automático (Labmax 240, Labtest). O método se baseia na oxidação da glutatona reduzida por um hidroperóxido, catalisada pela GPx. Na presença da enzima e do cofator NADPH, a glutatona oxidada é imediatamente convertida à forma reduzida com a oxidação concomitante do NADPH em NADH^+ (PAGLIA e VALENTINE, 1967).

Adicionou-se 50 μL de eritrócitos a tubos previamente identificados e em seguida 1mL de diluente. Após 5 minutos foi adicionado 1mL da solução de Drabkin. A leitura da absorbância foi feita em até 20 minutos. O valor da absorbância foi multiplicado pela diluição e corrigido pelo valor de hemoglobina.

A concentração de hemoglobina do hemolisado foi determinada para que o resultado final fosse expresso em unidades de enzima por grama de hemoglobina (U/g Hb), considerando os valores de referência do fabricante.

4.3.2 Avaliação do consumo alimentar

O consumo alimentar dos participantes foi avaliado por meio de três registros alimentares, nos quais foram anotados todos os alimentos consumidos em dois dias na semana não consecutivos escolhidos pelo participante, representando sua dieta habitual, e um no final de semana. Os registros foram digitados no software AVANUTRI, com inclusão de dados da concentração de selênio em alimentos brasileiros realizada por Ferreira *et al*, 2002.

Os valores de ingestão dos macronutrientes e de selênio foram comparados com os valores de referência propostos pelo IOM, 2005. Para o selênio foi utilizado a EAR como padrão de referência de ingestão de grupos, de 45 µg . E para macronutrientes foram utilizados os percentuais em relação ao valor energético total, de 45 a 65% para carboidratos, 10 a 35% para proteínas e 20 a 35% para lipídios.

4.3.3 Determinação do selênio no plasma e eritrócitos

Uma pequena quantidade de plasma (250-400 µL) e eritrócitos (200 – 400 µL) foi transferida para tubos de pirex, de 30cm com a adição de 5mL de ácido nítrico. Os tubos foram colocados em bloco digestor, com temperatura inicial de 50°C, aumentando gradativamente até 150°C no máximo. Após total digestão do material orgânico, foi adicionado 5 mL de ácido clorídrico a 1,2N, para a redução do Se VI para o Se IV, com aquecimento a 100°C durante 2h . Finalmente, as amostras foram diluídas em balão volumétrico de 25mL com água ultrapura e submetidas a leitura por espectrometria de absorção atômica por geração de hidretos acoplados à cela de quartzo (HGQTAAS). Os resultados foram expressos em µg/L. (GONZAGA, 2002).

4.4 Seleção dos polimorfismos nos genes da enzima glutathione peroxidase (GPx)

Para a seleção dos polimorfismos, primeiramente foi pesquisado na base de dados UniProt (<http://www.uniprot.org/>) o código dos quatro genes que codificam a enzima glutathione peroxidase. Posteriormente, os polimorfismos presentes em cada um dos genes da glutathione peroxidase (GPx1, GPx2, GPx3 e GPx4) foram obtidos na base de dados dbSNP do site do National Institute for Biotechnology Information (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP>). Após essa primeira busca foram estabelecidos limites para selecionar apenas os *non-synonymous* SNPs indo

no item <Limits> e selecionando na opção <Organism>, 'homo sapiens' e na opção <Function Class>, 'coding nonsynonymous'.

Após ter realizado este procedimento para os quatro genes, cada SNP foi observado para avaliar a alteração de aminoácidos na proteína, observando no item <Gene View> Function> Protein> Residue Change. Nesta etapa, foram anotados a posição da troca de aminoácidos e os aminoácidos trocados para posterior análise no programa de predição de consequências funcionais a partir da estrutura da proteína, o PolyPhen. Os que tiveram alterações de aminoácidos foram analisados no referido programa. Se após análise a alteração tivesse sido considerada 'damaging', o SNP foi incluído no estudo.

Os polimorfismos selecionados por este método foram: rs1050450, rs4991448, rs8179169, rs17881652, rs17880492, rs8177445. Além disso, o rs3811699 e o rs8100668 também foram incluídos por fazerem parte do mesmo haplótipo que o rs1050450, totalizando 8 nsSNPs. Além desses nsSNPs, um SNP na região 3'UTR do gene da GPx4 (rs713041) também foi incluído por ser bem citado na literatura e possivelmente ter consequências funcionais. As informações completas dos polimorfismos pode ser vista na Tabela 5.

4.5 Determinação dos polimorfismos nos genes da glutathione peroxidase

A genotipagem da população do estudo foi feita por PCR em Tempo Real com *primers* e sondas específicas para cada SNP. Os ensaios foram diluídos de 40x para 20x utilizando tampão TE 1X, pH 8,0. Foi adicionado 187µL do tampão em cada tubo, e estocado 12 alíquotas de 31,3µL em tubos de 0,2mL. As alíquotas foram congeladas em freezer – 20°C.

Tabela 5 Lista dos polimorfismos selecionados para o estudo.

Genes	código no UniProt	SNP selecionados	códon trocado	bases trocadas	aminoácidos trocados
GPX1	P07203	rs1050450	CCC / CTC	C679T	Pro(P) 198 Leu(L)
		rs4991448	CTA / CCA	T97C	Leu (L) 6 Pro(P)
		rs8179169	CGG / CCG	G94C	Arg(R) 5 Pro(P)
		rs3811699	*	G-602A	*
		rs1800668	*	T2C	*
GPX2	P18283	rs17881652	CCT / CTT	C464T	Pro(P) 126 Leu(L)
		rs17880492	CGC / TGC	C523T	Arg(R) 146 Cys(C)
GPX3	P22352	rs8177445	TTT / CTT	T599C	Phe(F) 128 Leu(L)
GPX4	P36969	rs713041	3'UTR	C714T	*

* = sem troca

4.6 Análise Estatística

Para a análise estatística foram utilizados os programas Statistica versão 8 , SPSS versão 17 e Excel 2007. As variáveis quantitativas foram expressas como média, desvio padrão, coeficiente de variação e coeficiente de correlação. A normalidade dos dados foi testada pelo teste de Kolmogorov-Smirnov. Posteriormente, os dados referentes aos genótipos dos SNPs nos genes da enzima glutathione peroxidase foram agrupados. Foi realizado o teste Análise de Variância (ANOVA – One Way) para testar se a média das variáveis bioquímicas é a mesma para os diferentes grupos, ou seja, testar a hipótese nula de igualdade das médias. Se a hipótese nula foi rejeitada, realizou-se o pós teste de Duncan ou intervalos múltiplos de Tukey, considerando um nível de significância de 5%, para definir onde as diferenças estatisticamente significantes ocorreram. Os coeficientes de correlação de Pearson foram calculados para estabelecer possíveis relações entre as variáveis bioquímicas sem e com os diferentes genótipos. Os dados referentes à ingestão de selênio foram ajustados pela energia segundo método residual proposto por Willet, 1998, para eliminar o viés da variação do consumo energético. Primeiramente, foi testada a normalidade do dados pelo teste de Kolmogorov-Smirnov. A seguir, a correlação entre os valores

de selênio e a energia foi calculada e se deu positivo os ajuste foi feito. Posteriormente, foi feita a regressão linear tendo como variável independente a energia e como dependente o selênio. Foram calculados os valores do Nutriente Estimado, Residual, Constante e Ajustado. Por fim, foram calculadas as médias e desvio-padrão da variável ajustada.

A prevalência de inadequação da ingestão foi feita pelo método do ponto de corte pela EAR (BEATON, 1994). Primeiramente os dados foram testados quanto a normalidade. Se os resultado não caíram dentro da distribuição normal, os cálculos foram realizados transformando a variável em seu logaritmo natural . As variabilidades total, intra e interindividuais foram calculadas pelo teste One-Way Anova e a variabilidade intraindividual foi removida. A seguir foi feito o cálculo do nutriente ajustado e com a sua média e desvio padrão , foi calculado o valor de “z”, que corresponde em uma tabela de distribuição normal a uma determinada probabilidade, no caso , probabilidade de inadequação de ingestão do nutriente.

5 RESULTADOS

5.1 *Caracterização da população*

Foram coletadas amostras de 124 voluntários no total. Para todos foram entregues os documentos e destes, 94 voluntários responderam. Os dados a seguir são referentes ao Questionário de informações pessoais. Da população do estudo, 66% são do sexo feminino, a faixa etária mais representativa foi de 25 a 29 anos, com uma média de idade de 28,7anos, e 69,1% estavam dentro da faixa saudável para o peso, segundo o cálculo do Índice de Massa Corporal, IMC. Neste grupo, os homens tiveram uma tendência maior a ter sobrepeso, quando comparados com as mulheres ($\chi^2 = 12,14$; $p < 0,05$). Para a variável escolaridade, a 55% possuem nível superior, o que está coerente com a faixa etária mais representativa do grupo de 20 a 29 anos e as faixas de renda mais citadas foram de 2 a 5 SM seguida de 6 a 11SM. A ocorrência de DCNT na família foi citada por 78,%, e as doenças mais citadas foram Câncer (20,27%), Doença Cardiovascular (13,51%), Diabetes Mellitus II (8,11%). Mais da metade dos participantes (52,13%) afirmou ser de origem européia, seguida por sul americanos (12,77%) e europeus + sul americanos (17,02%).

5.2 *Avaliação do consumo alimentar*

A avaliação do consumo alimentar foi realizada pelo método do registro alimentar de 3 dias. Os registros foram digitados no software Avanutri Revolution. Este programa possui diversas bases de dados, e para este trabalho optou-se como preferencial a base da Tabela de Composição de Alimentos da Unicamp, a TACO, versão 2. Como nesta tabela não há valores de selênio, estes dados foram obtidos de um artigo científico que realizou esta análise em diversos alimentos

consumidos pela população brasileira (FERREIRA, 2002). Foi tomado esse cuidado na escolha das tabelas para obter um dado próximo à realidade brasileira.

A tabela 2 mostra as médias obtidas para o consumo de macronutrientes e de selênio calculados pelo Avanutri. Os valores de ingestão de selênio foram ajustados pela energia pois as variáveis apresentaram correlação positiva. A prevalência de inadequação da ingestão de selênio foi de 57%.

Tabela 6 Distribuição de macronutrientes e selênio obtidas por registros alimentares de 3 dias, São Paulo, 2011.

	energia (kcal)	carboidratos (% do VET)	proteínas (% do VET)	lipídios (% do VET)	Selênio* (ug/d)
média	1834,34	51,60	18,68	29,80	41,19
V. min	873,62	36,91	10,55	10,93	7,60
V. max	3563,27	77,69	33,04	42,38	428,07
d.p.	459,78	7,31	4,03	5,77	49,20
DRI, 2005.		45 a 65%	10 a 35%	20 a 35%	45 ug

*Valor ajustado pela energia.

VET: Valor Energético Total. DRI: Dietary Recommendation Intake.

A ingestão dos macronutrientes foi comparada com a recomendação estipulada pelas DRI, 2005. A mostra o consumo dos macronutrientes em relação a porcentagem do valor energético total (VET). Em relação ao consumo de carboidratos, 14,7% estava com a ingestão abaixo de 45% do VET, e somente 3,2% estava acima de 65%, e a grande maioria (82,1%) apresentou valores dentro do recomendado. Para proteínas, todos estavam dentro da faixa recomendada de 15 a 35% do VET, e em relação aos lipídios 5,3% estava ingerindo abaixo de 20% do VET, 78,9% estava dentro da recomendação e 15,8% estava acima dos 35% do VET.

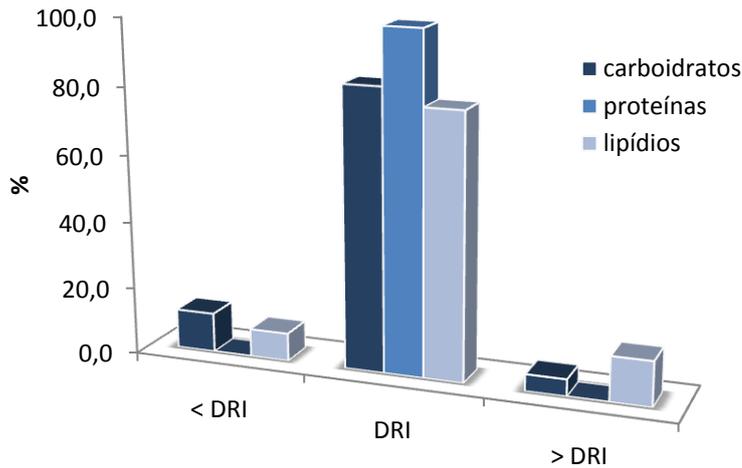


Figura 2 Distribuição de macronutrientes em relação a porcentagem do VET obtida através de registros alimentares de 3 dias, São Paulo, 2011.

5.3 Biomarcadores do estado nutricional relativo ao selênio

A tabela 3 mostra os valores obtidos para os marcadores bioquímicos relacionados ao selênio. As médias obtidas para as concentrações de selênio tanto no plasma (54,13ug/L) quanto no eritrócito (56,14ug/L) estão bem abaixo do que é esperado para uma população saudável. Analisando os dados referentes ao consumo alimentar, era esperado que esses valores fossem ficar baixos, uma vez que o selênio ingerido reflete nos parâmetros bioquímicos relacionados a este mineral. Entretanto, estatisticamente, não foi observada uma correlação significativa entre esses valores.

Tabela 7 Distribuição dos biomarcadores* relacionados ao selênio, São Paulo, 2011.

	Se Plasma (ug/L)	Se Eritrócito (ug/L)	Atividade GPx (U/gHb)
média	54,13	56,14	40,15
v. min	17,87	11,65	7,92
v. máx	129,65	293,24	84,84
d.p.	22,54	44,44	17,56

*: valores e referência: Se plasma: 60 a 120ug/L (VanDael e Deelstra, 1993), Se eritrócito : 90 a 190 ug/L(Ortuño, 1997) e Atividade da GPx (23 a 76 U/ gHb).

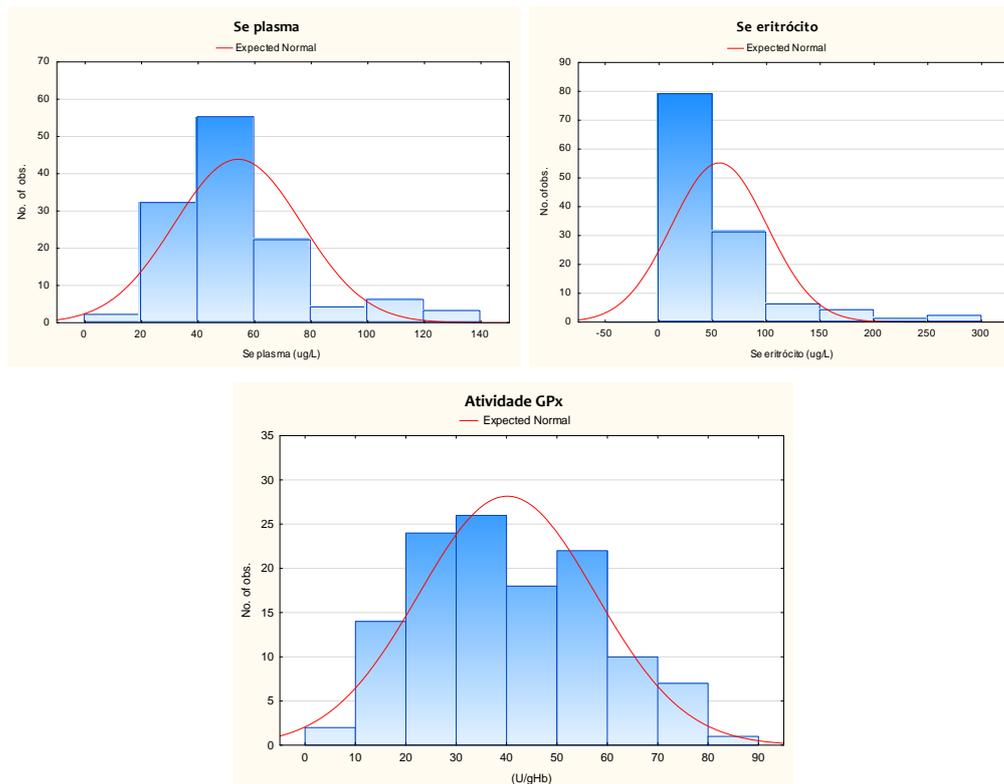


Figura 3 Concentração de Se no plasma, Se no eritrócito e atividade da enzima glutathiona peroxidase, São Paulo, 2011.

A média geral encontrada para as concentrações de selênio no plasma foi 54,13 μ g/L. Utilizando a recomendação proposta por VanDael e Deelstra (1993), de 60 a 120 μ g/L, aproximadamente 71% da população do estudo estava abaixo da referência, 26% estavam dentro da faixa de normalidade, e apenas 3% estavam com valores de selênio acima de 120 μ g/L. Deve-

se destacar que não há valores de referência mundiais para o selênio plasmático, e estas porcentagens seriam diferentes se valores propostos de outros trabalhos fossem utilizados.

Para o selênio no eritrócito a média encontrada foi de $56,17\mu\text{g/L}$. Utilizando valores de 90 a $190\mu\text{g/L}$ propostos por Ortuño, 1997, 90% dos voluntários estariam abaixo de $90\mu\text{g}$, 9% estariam dentro da faixa proposta e apenas 3% estaria com concentração de selênio no eritrócito acima de $190\mu\text{g/L}$.

Abaixo mostra os gráficos de dispersão entre as variáveis Se no plasma, Se no eritrócito e atividade da GPx. Não foi observada nenhuma correlação entre a atividade da enzima e ambos os biomarcadores de selênio, entretanto foi observada uma correlação moderadamente positiva entre o selênio no plasma e no eritrócito ($r = 0,604$), indicando que existe uma relação entre essas variáveis.

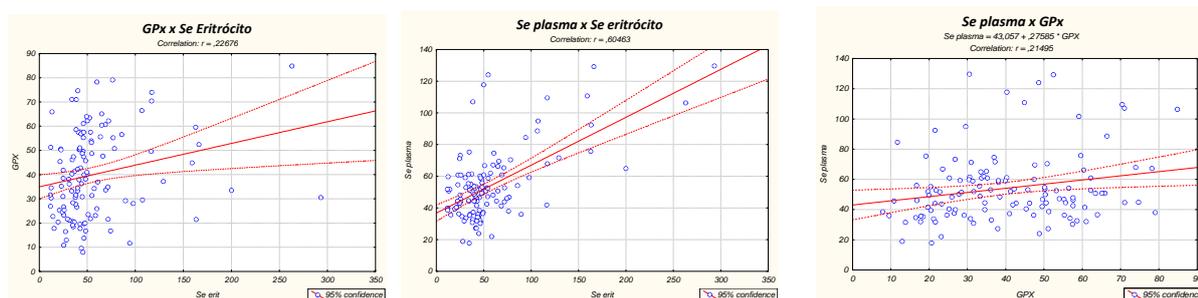


Figura 4 Gráficos de dispersão para concentração de Se no plasma, Se no eritrócito e atividade da enzima glutaciona peroxidase, São Paulo, 2011.

Resultados interessantes apareceram quando o gênero dos voluntários foi levado em consideração: as concentrações de selênio no plasma foram muito parecidas para ambos os gêneros ($F=54,21\mu\text{g/L}$; $M = 54,01\mu\text{g/L}$), as concentrações de selênio no eritrócito foram aparentemente maiores para os homens ($59,44\mu\text{g/L}$) do que para as mulheres ($54,02\mu\text{g/L}$), mas não houve nenhuma diferença estatística. Contudo, foi observada uma diferença estatística importante na média da atividade da enzima GPx entre os gêneros onde a média da atividade da GPx foi maior

para as mulheres ($F = 43,5$ U/gHb e $M = 34,84$ U/gHb, $p < 0,05$), conforme pode ser visto na figura 5 a seguir:

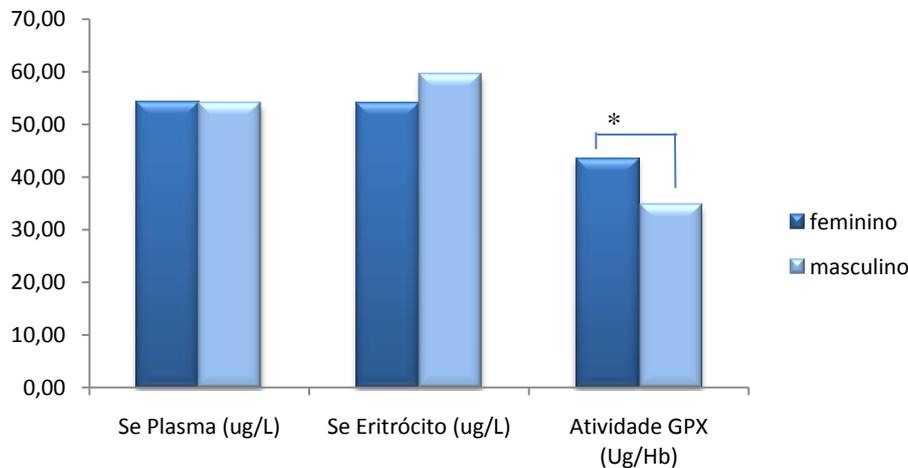


Figura 5 Médias das concentrações de Se plasma, Se eritrócito e atividade da GPx, separadas entre os gêneros, São Paulo, 2011.

5.4 Polimorfismos nos genes que codificam a enzima Glutathione Peroxidase (GPx)

A tabela 4 mostra as frequências para os diferentes genótipos nos SNPs escolhidos no presente estudo. O único SNP que não pode ser determinado por problemas técnicos foi o da GPx1, rs1800668. É possível perceber que em alguns SNPs, as frequências não seguiram o equilíbrio de Hardy-Weinberg, com 100% do grupo com o mesmo genótipo, como no Leu6Pro, Arg146Cys e no Phe128Leu, 100% dos voluntários com genótipo variante, o que pouco provável, ou ainda SNPs com apenas dois genótipos, como o Arg5Pro e o Pro126Leu. Mesmo assim, para os que tiveram no mínimo dois genótipos, foi calculada a diferença das médias e as correlações pertinentes, como é mostrado nos próximos itens.

Tabela 8 Frequências dos genótipos para os diferentes SNPs nos genes da GPx, São Paulo, 2011.

SNPs	Genótipo	n (%)
GPx1 - Pro198Leu (rs1050450)	CC	61 (49%)
	CT	59 (47%)
	TT	4 (3%)
GPx1 - Arg5Pro (rs8179169)	GG	40 (32%)
	GC	84 (68%)
	CC	0
GPx1 - G-602A (rs3811699)	GG	60 (48%)
	GA	47 (47%)
	AA	5 (4%)
GPx1 - Leu6Pro (rs4991448)	TT	0
	TC	124 (100%)
	CC	0
GPx2-Pro126Leu (rs17881652)	TT	117 (94%)
	TC	7 (6%)
	CC	0
GPx2-Arg146Cys (rs17880492)	CC	124 (100%)
	CT	0
	TT	0
GPx3-Phe128Leu (rs8177445)	TT	0
	TC	0
	CC	124 (100%)
GPx4 - C718T (rs713041)	CC	46 (37%)
	CT	55 (44%)
	TT	23 (18%)

5.4.1 *GPx1 – Pro198Leu, Arg5Pro e G-602A*

As frequências dos genótipos para os SNP no gene da GPx1 Pro198Leu (rs1040450) Arg5Pro (rs8179169) e G-602A (rs3811699) e as médias das variáveis bioquímicas encontradas separadas pelos genótipos estão apresentadas na tabela 4. Para o Pro198Leu, não foi observada nenhuma diferença estatística significativa entre essas médias, apesar do gráfico de médias nos diferentes genótipos mostrar uma tendência de redução das concentrações de selênio no plasma e eritrócito no genótipo TT variante (Leu/Leu), o mesmo não ocorrendo para a atividade da GPx, onde há um aparente aumento da média neste genótipo (figura 6A). Para o Arg5Pro, não foi observada nenhuma amostra com o genótipo variante. Foi encontrada uma diferença significativa entre as médias das variáveis Se eritrócito e atividade da GPx nos diferentes genótipos ($p < 0,05$) (figura 6B). Considerando o G-602A, não foi observada nenhuma diferença estatística significativa nestes valores, apesar do gráfico de médias dos diferentes genótipos mostrarem uma tendência de

redução para as variáveis Se plasma e Se eritrócito no genótipo variante AA (figura 6C), cujo padrão é semelhante ao Pro198Leu. Importante relembrar que um dos motivos de se ter incluído este SNP no estudo foi o fato de ele estar no mesmo haplótipo que o SNP Pro198Leu (rs1050450), fato que foi comprovado em nossos resultados, onde as pessoas com genótipo variante para o SNP rs3811699 também eram polimórficas para o Pro198Leu. Além disso, este SNP é o único do estudo na região promotora do gene, localizado a -602 bases do início da região codificadora.

Tabela 9 Média das variáveis Se plasma, Se eritrócito e atividade da GPx separadas entre os diferentes genótipos para os SNPs Pro198Leu, Arg5Pro e G-602A no gene da GPx1, São Paulo, 2011.

SNPs	Genótipo	Se Plasma (ug/L)	Se Eritrócito (ug/L)	Atividade GPX (Ug/Hb)	n (%)
GPx1 - Pro198Leu (rs1050450)	CC	54,09	55,74	39,45	61 (47%)
	CT	54,84	57,30	40,63	59 (49%)
	TT	44,31	45,08	43,90	4 (3%)
GPx1 - Arg5Pro (rs8179169)	GG	52,53	69,15	44,82	40 (32%)
	GC	54,90	50,10	37,93	84 (68%)
GPX1 - G-602A (rs3811699)	GG	55,07	56,89	56,89	60 (48%)
	GA	54,02	55,88	55,88	47 (47%)
	AA	44,24	50,42	50,42	5 (4%)

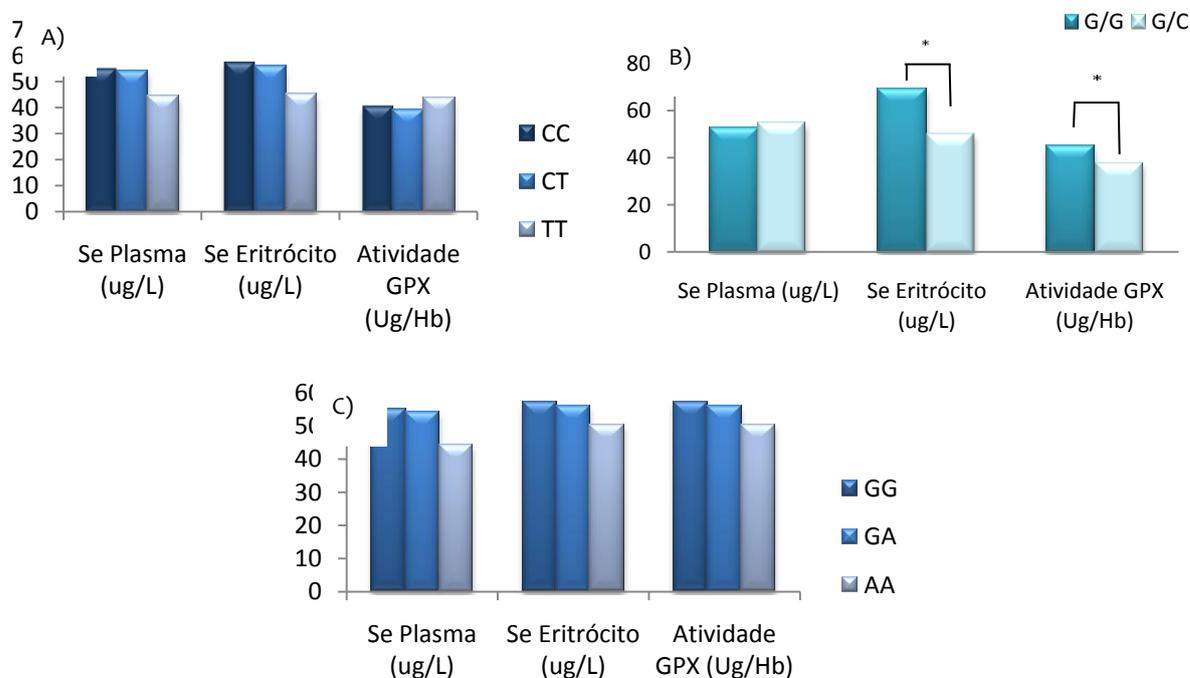


Figura 6 Média das variáveis Se plasma, Se eritrócito e atividade da GPx separadas entre os diferentes genótipos para os SNPs (A)Pro198Leu, (B) Arg5Pro e (C)G-602A no gene da GPx1, São Paulo, 2011.

As correlações entre as variáveis foram investigadas em relação aos diferentes genótipos e para o Pro198Leu, foi observada uma correlação positiva para o Se no plasma e Se no eritrócito nos genótipos CC ($r = 0,6604$, $p < 0,05$) e CT ($r = 0,5506$, $p < 0,05$), não havendo correlação dessas variáveis no genótipo TT (figura 7A). Esses dados mostram que a correlação vai ficando mais fraca na presença de pelo menos um alelo variante T (Leu). Em relação ao Arg5Pro, foi observada uma correlação mais forte ($r = 0,76$, $p < 0,05$) no genótipo GG (Arg/Arg) de referência quando comparada com a dos heterozigotos GC (Arg/Pro) ($r = 0,58$, $p < 0,05$) (figura 7B). Para o G-602A foi encontrada uma correlação moderadamente positiva nos genótipos GG ($r = 0,6593$, $p < 0,05$) e no genótipo GA a correlação foi um pouco mais fraca ($r = 0,5573$, $p < 0,05$), e esses valores foram parecidos com os do Pro198Leu. Para o genótipo variante AA não foi observada nenhuma correlação estatisticamente significativa, como mostram os gráficos da figura 7C.

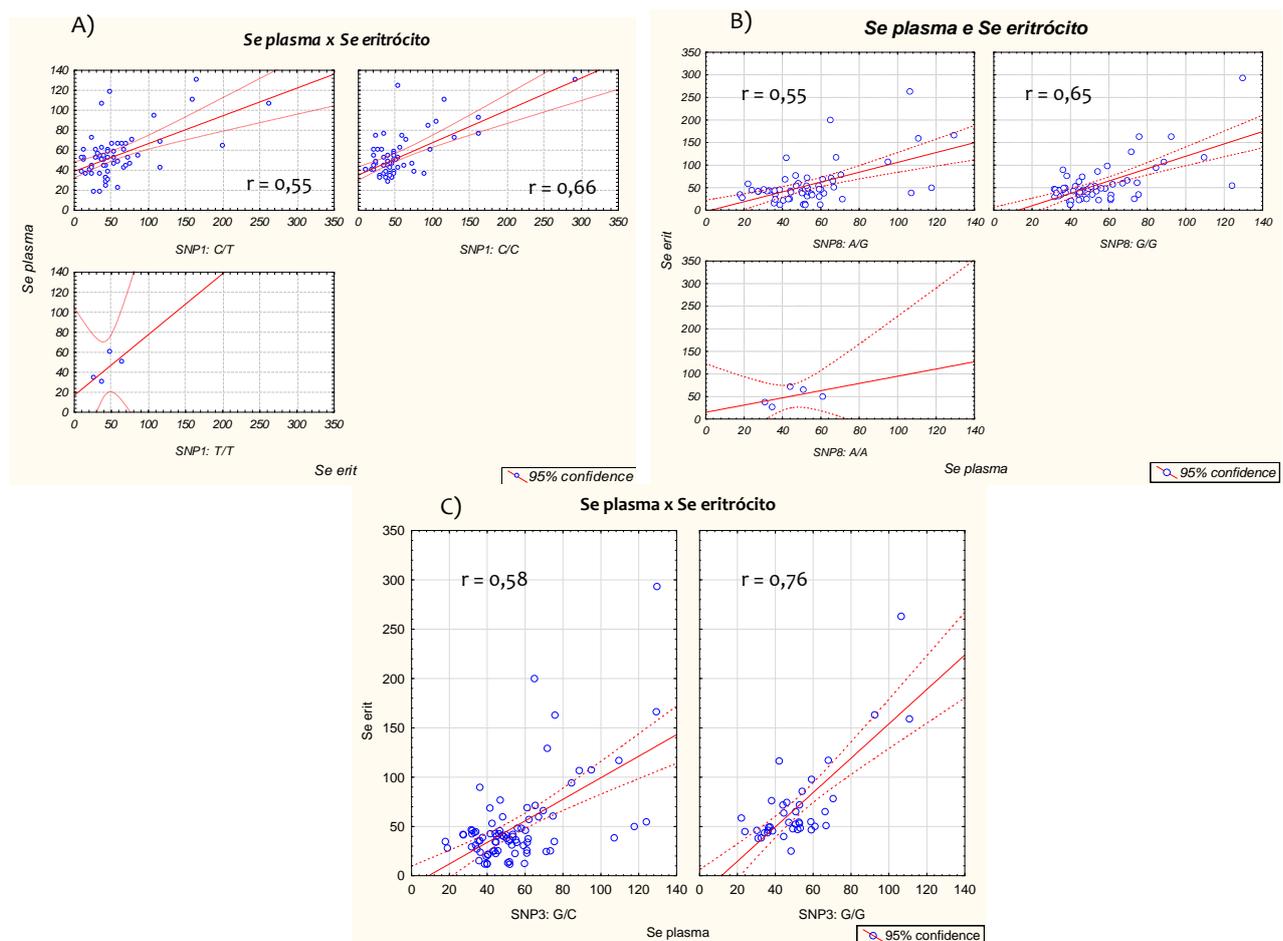


Figura 7 Gráficos de dispersão das variáveis Se plasma e Se eritrócito separadas entre os diferentes genótipos para os SNPs (A)Pro198Leu, (B)G-602A e (C) Arg5Pro no gene da GPx1, São Paulo, 2011.

Para as variáveis Se eritrócito e atividade da GPx, houve uma correlação fraca nos heterozigotos para o Pro198Leu ($r = 0,3873$, $p < 0,05$) e no G-602A ($r = 0,4032$, $p < 0,05$) para o genótipo heterozigoto GA (figura 8).

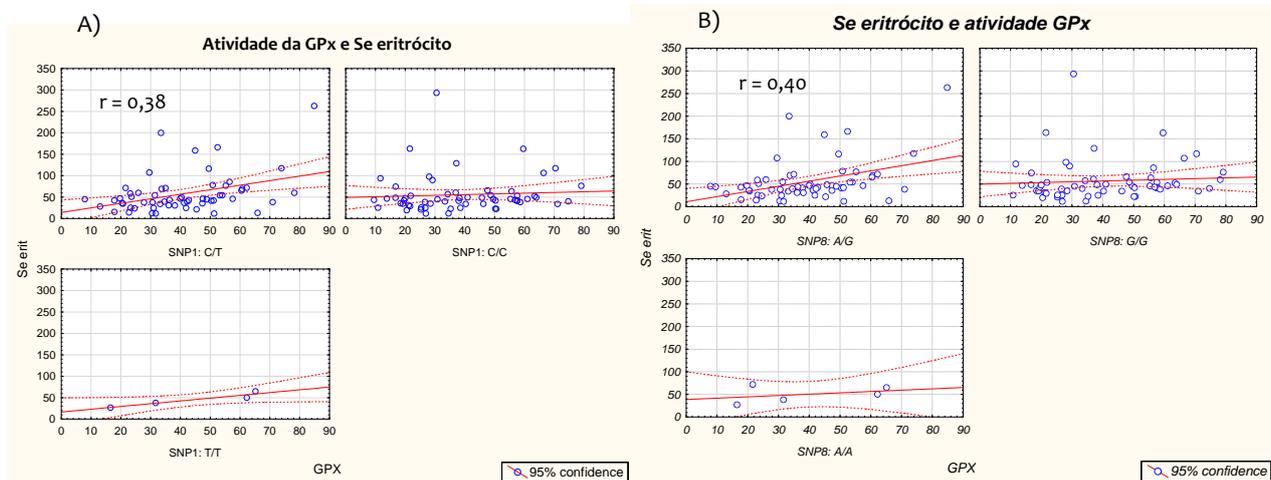


Figura 8 Gráficos de dispersão das variáveis atividade da GPx e Se eritrócito separadas entre os diferentes genótipos para os SNPs (A)Pro198Leu e (B)G-602A no gene da GPx1, São Paulo, 2011.

Para investigar se o gênero poderia influenciar o comportamento das variáveis entre os diferentes genótipos, os dados foram analisados levando em conta esta variável também, e os resultados podem ser vistos na tabela 5. Em relação ao Pro198Leu, foram encontradas diferenças estatísticas importantes nos valores da atividade da GPx dos diferentes genótipos entre os dois gênero e também dentro do mesmo gênero. A média da atividade da GPx no genótipo TT (Leu/Leu) é menor que a média dos genótipos CC (Pro/Pro) e CT (Pro/Leu) nas mulheres (ANOVA, pós teste de Duncan $p < 0,05$). Além disso, a média da atividade da enzima no genótipo variante TT (Leu/Leu) é diferente entre os gêneros: nas mulheres é menor do que nos homens (ANOVA, pós teste de Duncan $p < 0,05$), situação oposta foi observada para o genótipo de referência CC, onde a média da atividade da enzima foi maior para as mulheres (ANOVA, pós teste de Tukey $p < 0,05$) (figura 10A).

Considerando o Arg5Pro, houve uma diferença estatística nas médias da atividade da GPx entre os genótipos e os gêneros, como pode ser melhor visualizado na figura 9B. Em ambos os genótipos, a média da atividade da GPx nas mulheres foi maior do que nos homens. E somente para as mulheres, a média do genótipo GG de referência foi maior do que a média dos heterozigotos GC (ANOVA, *pos hoc* de Duncan, $p < 0,05$). Nos homens, não houve diferença entre os genótipos. Em relação ao G-602A, foi observado um comportamento semelhante aos dados obtidos no SNP Pro198Leu, onde a média da atividade da GPx no genótipo variante AA é menor que a média dos genótipos GG e GA nas mulheres (ANOVA, pós teste de Duncan $p < 0,05$). Além disso, a média da atividade da enzima no genótipo variante AA é diferente entre os gêneros: nas mulheres é menor do que nos homens (ANOVA, pós teste de Duncan $p < 0,05$), situação oposta foi observada para o genótipo de referência GG, onde a média da atividade da enzima é maior para as mulheres (ANOVA, *pos hoc* Duncan $p < 0,05$) (figura 9C).

Tabela 10 Média das variáveis Se plasma, Se eritrócito e atividade da GPx separadas entre os diferentes gêneros e genótipos para os SNPs (A)Pro198Leu, (B)G-602A e (C) Arg5Pro no gene da GPx1, São Paulo, 2011.

SNPs	Gênero	Genótipo	Se Plasma (ug/L)	Se Eritrócito (ug/L)	Atividade GPX (Ug/Hb)	n (%)
GPx1 - Pro198Leu (rs1050450)	Feminino	CC	53,59	57,29	45,90	37 (30%)
		CT	55,33	51,64	41,87	38 (31%)
		TT	34,61	27,21	16,55	1 (1%)
	Masculino	CC	54,85	53,42	29,50	24 (19%)
		CT	53,97	67,54	38,37	21 (17%)
		TT	47,54	51,04	53,01	3 (2%)
GPx1 - Arg5Pro (rs8179169)	Feminino	GG	49,61	68,98	50,38	22 (18%)
		GC	56,09	48,21	40,70	54 (44%)
	Masculino	GG	56,11	69,35	38,04	18 (15%)
		GC	52,75	53,50	32,93	30 (24%)
GPx1 - G-602A (rs3811699)	Feminino	GG	54,65	58,55	47,24	38 (31%)
		GA	54,57	49,63	40,91	36 (29%)
		AA	39,29	49,49	19,07	2 (2%)
	Masculino	GG	55,79	53,15	47,54	22 (18%)
		GA	54,09	65,67	51,04	23 (19%)
		AA	29,66	37,44	53,01	3 (2%)

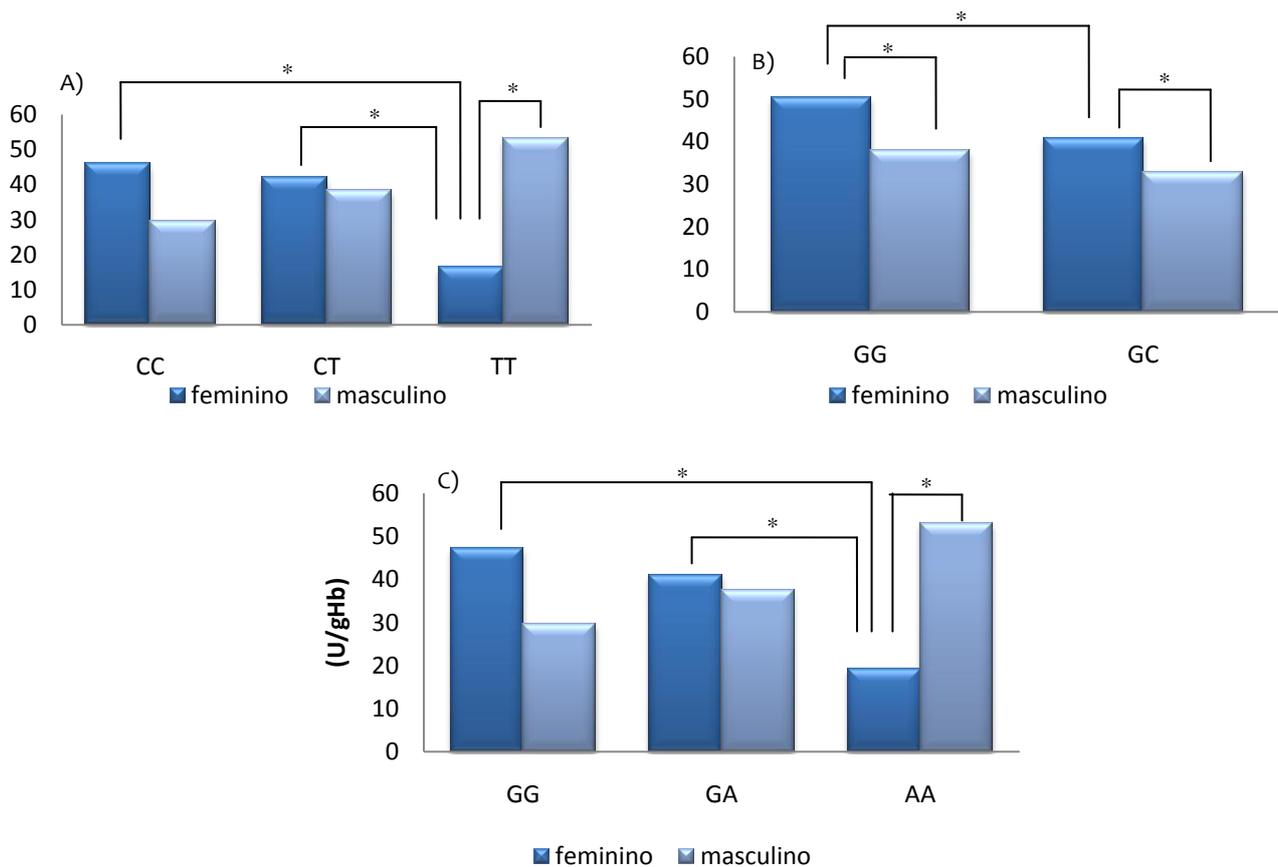


Figura 9 Média da atividade da GPx separada entre os diferentes gêneros e genótipos para os SNPs (A)Pro198Leu, (B) Arg5Pro e (C) G-602A no gene da GPx1, São Paulo, 2011.

Ao analisar as correlações entre variáveis Se plasma e Se eritrócito, segundo os gêneros e os diferentes genótipos para os 3 SNPs, resultados interessantes foram observados. Para o Pro198Leu (figura 10A), a correlação foi mais forte nas mulheres no genótipo CC (Pro/Pro) de referência ($r=0,66$, $p<0,05$) do que no heterozigoto CT (Pro/Leu) ($r=0,36$, $p<0,05$). Já para os homens ocorreu o oposto: a correlação foi mais forte nos heterozigotos CT (Pro/Leu) ($r=0,76$, $p<0,05$) do que no genótipo CC (Pro/Pro) de referência ($r=0,68$, $p<0,05$). No Arg5Pro (figura 10B), houve uma correlação mais forte no genótipo GG em ambos os gêneros. Para o G-602A (figura 10C), as correlações também foram mais fortes nos homens: no genótipo GG de referência o valor de r foi de $r=0,68$ e no heterozigoto GA de $r=0,76$. Nas mulheres só houve correlação no genótipo de referência GG de $r=0,65$. Neste SNP, assim como no Pro198Leu, a

correlação nos homens foi maior para os heterozigotos. No geral, as correlações entre essas variáveis foram mais fortes nos homens do que nas mulheres, e entre as mulheres, foram mais fortes nos genótipos homozigotos de referência.

Para as variáveis Se eritrócito e atividade da GPx as correlações apareceram somente no G-602A, onde foi observada uma correlação moderada somente para os homens com genótipo GA ($r=0,56$, $p<0,05$).

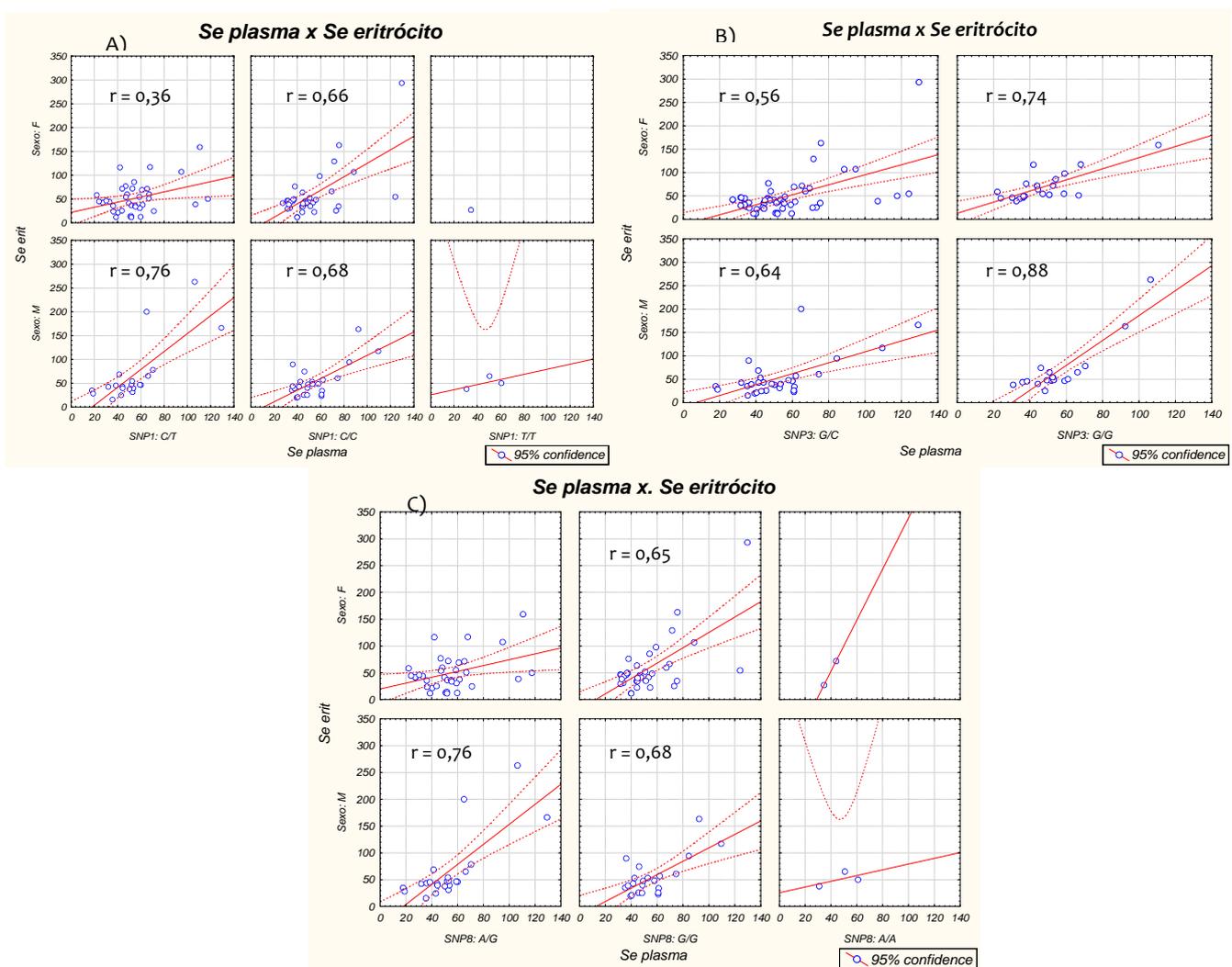


Figura 10 Gráficos de dispersão das variáveis Se plasma e Se eritrócito separadas entre os gêneros e genótipos para os SNPs Pro198Leu(A), Arg5Pro (B) e G-602A (C) no gene da GPx1, São Paulo, 2011.

5.4.2 GPx2 e GPx4 : Pro126Leu e C718T

A tabela 7 mostra os valores das médias das variáveis Se plasma, Se eritrócito e atividade da GPx separadas pelos diferentes genótipos do SNP Pro126Leu no gene da GPx2 (rs17881652) e C718T no gene da GPx4 (rs713041). Para o Pro126Leu, não foi observada nenhuma amostra com o genótipo variante CC. Entretanto, foi observada uma diferença estatística significativa nas médias das variáveis Se plasma e Se eritrócito nos dois genótipos encontrados, com uma tendência de aumento desses valores nos heterozigotos, como mostram as figura. No C718T, não foi observada nenhuma diferença estatística nestes valores, apesar do gráfico de barras mostrar uma tendência de diferença para as variáveis entre os diferentes genótipos.

Tabela 11 Média das variáveis Se plasma, Se eritrócito e atividade da GPx separadas entre os diferentes genótipos para os SNPs Pro126Leu e C718T, São Paulo, 2011.

SNPs	Genótipo	Se Plasma (ug/L)	Se Eritrócito (ug/L)	Atividade GPX (Ug/Hb)	n (%)
GPx2-Pro126Leu (rs17881652)	TT	53,05	54,78	40,65	117 (94%)
	TC	72,19	78,63	31,75	7 (6%)
GPx4 - C718T (rs713041)	CC	58,27	52,97	37,89	46 (37%)
	CT	52,33	60,06	42,34	55 (44%)
	TT	50,15	52,97	39,44	23 (18%)

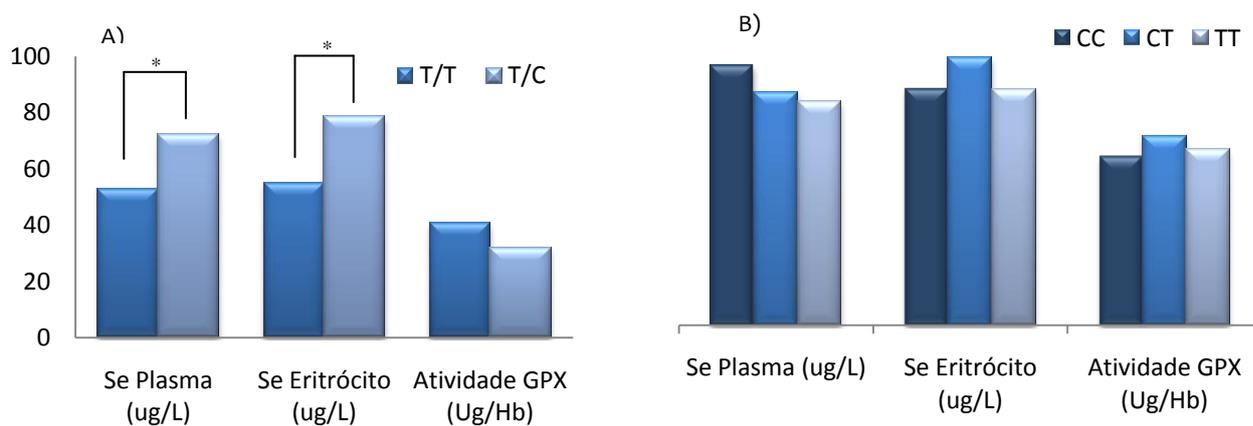


Figura 11 Média das variáveis Se plasma, Se eritrócito e atividade da GPx separadas entre os diferentes genótipos para os SNPs Pro126Leu e C718T, São Paulo, 2011.

A figura 12 mostra as correlações entre as variáveis Se plasma e Se eritrócito nos diferentes genótipos do SNP Pro126Leu e C718T . Para o Pro126Leu (figura 12A), encontrou-se uma correlação positiva moderada nos homozigotos TT de referência ($r=0,58$, $p<0,05$) e para os heterozigotos a correlação foi bem mais forte ($r=0,96$, $p<0,05$). No C718T no gene da GPx4 (figura 12B), encontrou-se uma correlação positiva entre o selênio no plasma e no eritrócito no genótipo CC ($r=0,75$) e uma correlação moderadamente positiva entre o selênio no plasma e no eritrócito no genótipo CT ($r=0,5755$), sugerindo uma influência deste alelo variante na relação entre as variáveis, conforme mostra a figura .

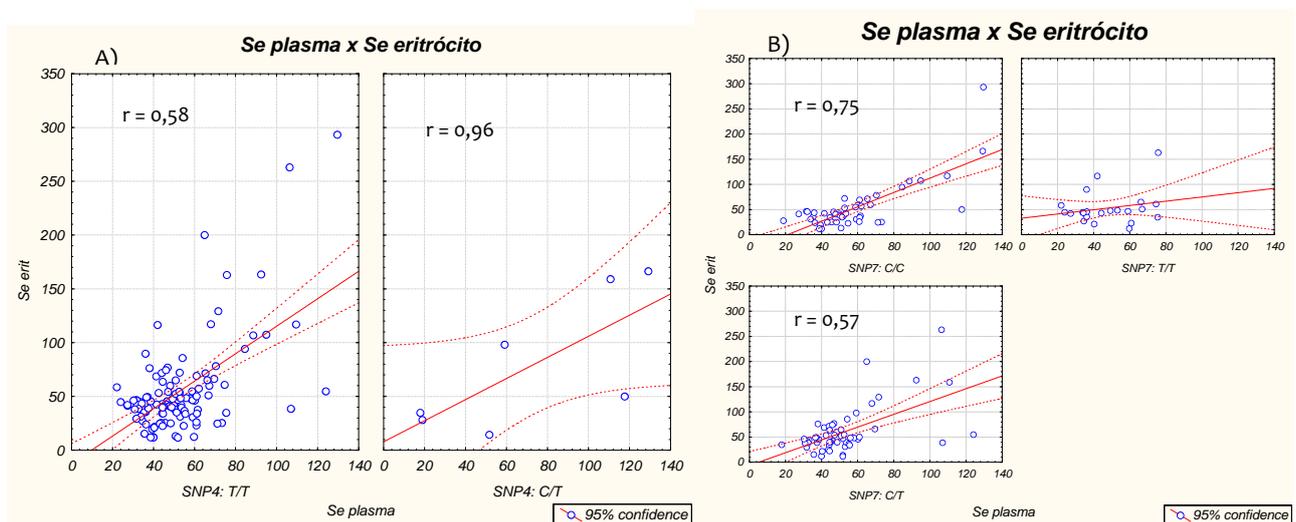


Figura 12 Gráficos de dispersão entre as variáveis Se plasma e Se eritrócito nos diferentes genótipos para os SNPs Pro126Leu e C718T São Paulo, 2011.

Para as variáveis Se eritrócito e atividade da GPx as correlações apareceram somente no Pro126Leu, onde foi observada uma correlação forte nos heterozigotos TC ($r=0,8365$, $p<0,05$), conforme mostra a figura 13.

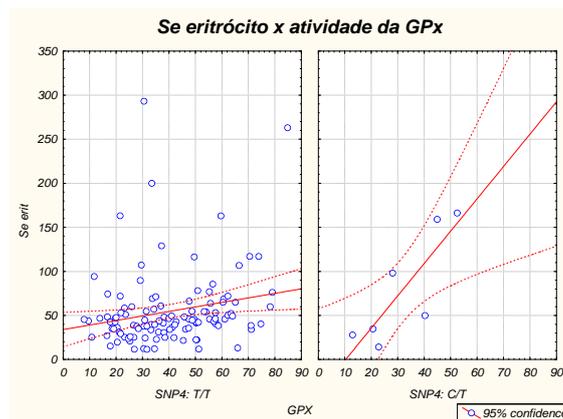


Figura 13 Gráficos de dispersão entre as variáveis atividade da GPx e Se eritrócito nos diferentes genótipos para o Pro126Leu no gene da GPx2, São Paulo, 2011.

A tabela 13 mostra os mesmos dados das variáveis agora separados também pelo gênero. Para o Pro126Leu, foi encontrada uma diferença significativa nas médias somente para o Se plasma, onde a média do Se plasma nas mulheres diferiu entre os genótipos, sendo maior para o genótipo TC (ANOVA seguida de Duncan, $p < 0,05$). Outra diferença importante foi nas médias no genótipo CT: a média das mulheres foi maior do que a dos homens (ANOVA seguida de Duncan, $p < 0,05$) (figura 14). Em relação ao C718T no gene da GPx4, não foi observada nenhuma diferença nas médias das variáveis entre os diferentes gêneros e genótipos.

Tabela 12 Média das variáveis Se plasma, Se eritrócito e atividade da GPx separadas entre os diferentes genótipos para os SNPs Pro126Leu e C718T, São Paulo, 2011.

SNPs	Gênero	Genótipo	Se Plasma (ug/L)	Se Eritrócito (ug/L)	Atividade GPX (Ug/Hb)	n (%)
GPx2-Pro126Leu (rs17881652)	Feminino	TT	52,51	52,55	44,03	72 (58%)
		TC	84,82	80,31	34,03	4 (3%)
	Masculino	TT	53,92	58,32	35,26	45 (36%)
		TC	55,35	76,39	28,71	3 (2%)
GPx4 - C718T (rs713041)	Feminino	CC	58,34	52,68	42,60	29 (23%)
		CT	53,29	54,67	45,43	33 (27%)
		TT	47,83	55,39	40,82	14 (11%)
	Masculino	CC	58,17	53,47	29,85	17 (14%)
		CT	50,90	68,15	37,71	22 (18%)
		TT	53,76	49,47	37,28	9 (7%)

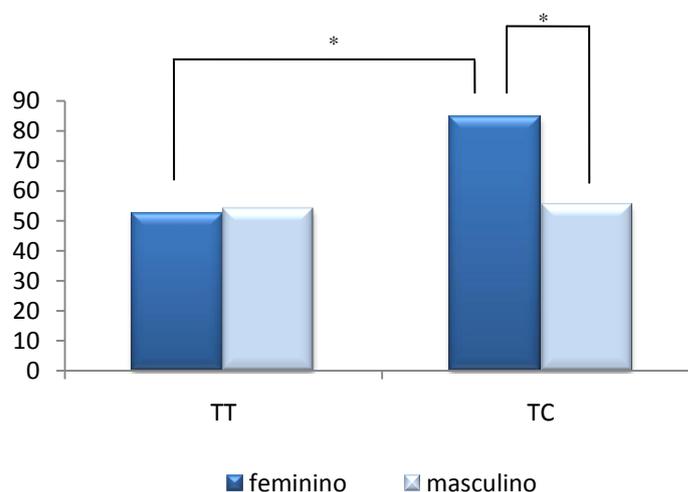


Figura 14 Médias da variável Se plasma separadas entre os gêneros e diferentes genótipos para o SNP Pro126Leu no gene da GPx2, São Paulo, 2011.

As correlações entre as variáveis Se plasma e Se eritrócito levando em consideração o gênero e o genótipo foram avaliadas e os resultados podem ser vistos na figura 15. Para o Pro126Leu (figura 15A), encontrou-se uma correlação maior para os homens no genótipo TT ($r=0,6868$, $p<0,05$) do que para as mulheres ($r=0,5277$, $p<0,05$). No genótipo TC, houve correlação somente para os homens, sendo esta muito alta. ($r=0,9986$, $p<0,05$). No C718T no gene da GPx4 (figura 15B), correlações interessantes foram observadas tendo a influência do gênero e

do genótipo. Em ambos os gêneros houve correlação do Se plasmático e eritrocitário nos genótipos CC e CT, porém nenhuma correlação foi vista no genótipo variante. A diferença importante foi o nível da correlação entre homens e mulheres. Para as mulheres, a correlação entre o Se no plasma e no eritrócito para o genótipo CC foi boa ($r=0,6994$, $p<0,05$) e esse valor caiu para $r=0,4467$ no genótipo CT. Já para os homens, a correlação entre essas variáveis foi muito positiva ($r=0,9181$, $p<0,05$) e também caiu no genótipo CT ($r=0,8059$), mas permaneceu maior do que nas mulheres.

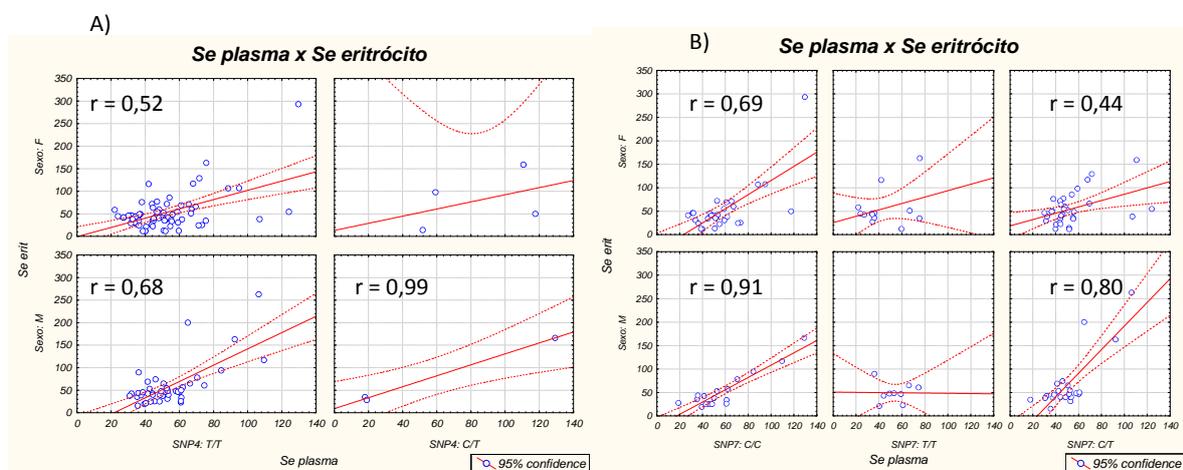


Figura 15 Gráficos de dispersão das variáveis Se plasma e Se eritrócito separadas entre os gêneros e diferentes genótipos para os SNPs Pro126Leu (A) e C718T (B), São Paulo, 2011.

Ao estudar as correlações entre o Se eritrocitário e a atividade da enzima GPx no C718T, só foi observada uma correlação quando os dados foram separados entre os gêneros e os diferentes genótipos. Ainda assim só foi observado uma correlação moderada ($r=0,5570$, $p<0,05$) nos homens no genótipo CC.

6 DISCUSSÃO

O principal objetivo deste estudo foi investigar se havia uma relação entre a presença dos polimorfismos nos genes da enzima GPx e as concentrações dos biomarcadores do estado nutricional relativo ao selênio. Pelos resultados apresentados, há uma relação clara entre estes dois fatores.

Neste trabalho, o consumo alimentar dos participantes foi avaliado pelo Registro Alimentar de 3 dias, utilizando dados da concentração de selênio em alimentos obtidas por Ferreira, 2002. A média obtida para a ingestão de selênio foi de 41,19 ug/d, valor este abaixo do esperado para a ingestão de uma população adulta saudável. Um dos fatores que podem explicar essa média baixa para a ingestão de selênio nesta população é a falta de dados da concentração de selênio em outros tipos de alimentos brasileiros *in natura*, como queijos, peixes, carnes e em alimentos industrializados com biscoitos integrais, pães integrais, granolas, barras de cereais, possíveis fontes de selênio na dieta dessa população. Isso mostra a importância de se avançar e continuar os estudos para o enriquecimento dos dados de tabelas de composição de alimentos brasileiros, uma vez que elas são as bases para orientações nutricionais fundamentadas e coerentes.

Para indivíduos saudáveis este valor de 41,19µg/d está reduzido quando comparados com dados de outros trabalhos brasileiros. Bortoli (2005) verificou que o consumo de selênio em vegetarianos foi em média 71,8µg/d para os homens adultos e 55,5µg/d para as mulheres. Maia (2008), observou no grupo controle de seu estudo com pacientes com distúrbios tireoidianos uma média de consumo do mineral de 110µg/d para o grupo controle de São Paulo, e, 200µg/d para o grupo controle do Ceará. Essas diferenças tão grandes provavelmente são decorrentes da utilização da tabela norte americana para os cálculos, cujos alimentos possuem maior quantidade de selênio.

Boaventura, 1994, encontrou uma ingestão de selênio de 18ug/d para homens e 13,6ug/d para mulheres estudantes da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da USP. A nossa população foi e sua maioria estudantes da USP e os valores foram obtidos para ingestão do mineral foram mais

que o dobro do obtido por Boaventura. Essas diferenças são decorrentes provavelmente da falta de dados da concentração de selênio nos alimentos naquela época. Coutinho, 1999, ao estudar o consumo alimentar de adultos praticantes de capoeira encontrou valores parecidos com o nosso para as mulheres (42,06ug/d) e um pouco maior para homens (61,35ug/d).

A prevalência de inadequação da ingestão de selênio observada foi 57%, e esse valor pode ser considerado alto, uma vez que o grupo de estudo é de indivíduos adultos saudáveis, e eles deveriam ser referência para ingestão do mineral. Este resultado pode servir de argumento para outros estudos de base populacional, a fim de investigar o *status* de selênio na população brasileira, e a criação de medidas de educação de nutricional para aumentar o consumo de micronutrientes como um todo, inclusive o de selênio na população.

A avaliação do estado do nutricional relativo ao selênio neste trabalho utilizou três biomarcadores: as concentrações do mineral no plasma, eritrócito e atividade da GPx eritrocitária. As concentrações de selênio plasmático foram de 54,13ug/L, valor abaixo dos propostos por outros estudos, como já destacado anteriormente. Deve-se ressaltar que não há valores de referência mundiais para o selênio plasmático, e estas porcentagens seriam diferentes se valores propostos de outros trabalhos fossem utilizados. Por exemplo, se valores propostos por Alegria, 1996, fossem utilizados, 60% dos voluntários estaria abaixo de 53ug/L, 33% estaria dentro da faixa proposta de 53 a 109ug/L, e somente 7% estaria acima de 109ug/L. As concentrações de selênio eritrocitário encontradas, de 56,14ug/L, são ainda mais preocupantes, do ponto de vista bioquímico. O selênio no eritrócito é considerado um biomarcador de médio prazo, indicando o estado nutricional antes do momento da coleta do material biológico. E como os valores estão praticamente similares aos do selênio plasmático, isso indica que estes voluntários já vêm com um histórico de deficiência do mineral. Considerando os valores propostos por Ortuño, 1997, 90% da dos participantes estaria abaixo do valor mínimo. Estes resultados indicam que esse valor proposto de 90 a 190µg/L está bem elevado para a essa população em especial, e provavelmente, a média das concentrações de

selênio eritrocitário para uma população adulta em São Paulo não chega em valores tão elevados. Com isso, destaca-se a importância de mais estudos na população brasileira, em diferentes regiões, para aumentar o conhecimento a respeito do estado nutricional relativo ao selênio em âmbito nacional, e assim, possibilitar a utilização de valores propostos por estudos brasileiros.

A atividade da GPx eritrocitária é referenciada na literatura como um marcador sensível ao estado nutricional de selênio, chegando ao platô com 80 a 120 μ g/L de selênio no plasma (HURST, 2010), dependendo da forma do selênio nos alimentos, uma vez que o metabolismo das formas orgânicas e inorgânicas é diferente (FAIRWEATHER – TRAIT, 2010; RAYMAN, 2008). A deficiência de selênio afeta principalmente as selenoproteínas em uma posição mais baixa na hierarquia de síntese de selenoproteínas, como já comentado anteriormente, e a GPx1 está nessa posição, sendo uma das primeiras a ter a sua atividade reduzida na deficiência do mineral. Como consequência, ela é uma das primeiras selenoproteínas a responder a um aumento na ingestão do mineral, assim como o Se plasmático. No presente estudo a atividade da GPx de 40,15 U/gHb estava coerente com os resultados de outros trabalhos com população adulta normal.

Comparando com o estudo de Coutinho (2003) a atividade da GPx (26,87 U/gHb) foi inferior a este estudo, porém para os valores de selênio no plasma (78,96 μ g/L) e no eritrócito (118,44 μ g/L) foram maiores, sendo essa diferença mais acentuada no eritrócito. Bortoli (2009) encontrou resultados maiores para selênio no plasma (75,4 μ g/L) e eritrócito (86,3 μ g/L) e semelhantes para atividade da GPx (37,1 U/gHb) em seu grupo controle composto por mulheres adultas residentes na cidade de São Paulo. Maia (2008) observou em seus dois grupos controles, compostos por adultos nos estados de São Paulo e Ceará, valores semelhantes a este estudo somente para selênio no plasma no grupo controle de São Paulo (66,53 μ g/L). As concentrações de selênio no eritrócito (79,96 μ g/L) foram bem maiores, assim como nos dois outros estudos. A atividade da GPx (47,67 U/gHb) foi bem similar ao encontrado neste estudo.

Xia e colaboradores (2005) avaliaram o *status* de selênio da população na província de Sichuan, região deficiente em selênio na qual a doença de Keshan é endêmica. Os resultados mostraram que a média de selênio no plasma das mulheres foi 21 μ g/L e dos homens 23,2 μ g/L, valores bem abaixo do encontrado no presente estudo (54,13 μ g/L). Estes resultados indicam que se comparados com estudos brasileiros de outras populações também adultas, os valores dos marcadores bioquímicos estão abaixo do mínimo esperado, que seria por volta de 60 a 70 μ g/L para plasma e 80 a 100 para o eritrócito (segundo valores propostos citados anteriormente), entretanto longe de valores que seriam preocupantes do ponto de vista da ocorrência da Doença de Keshan.

Considerando as diferenças encontradas na atividade da GPx entre os gêneros, a qual foi maior para as mulheres, alguns estudos vão de acordo com nossos resultados. Massafra, 2002, demonstrou em um estudo com adultos saudáveis que a atividade da GPx eritrocitária é realmente maior nas mulheres, e que essas diferenças são decorrentes do estrogênio. Foi demonstrado em um estudo com mulheres durante as diferentes fases do ciclo menstrual, que a distribuição do selênio nos compartimentos sanguíneos e a atividade da GPx eritrocitária é maior nas mulheres, uma vez que o estrogênio aumenta a atividade da enzima. E durante o ciclo menstrual, as concentrações de Se plasmático e a atividade da GPx variam em sincronia com as concentrações de estrogênio circulante (HA, 2003). Ademais, em mulheres utilizando contraceptivos orais por muito tempo, a atividade da GPx eritrocitária vai aumentando progressivamente (MASSAFRA, 2002).

Estudos avaliando o estado nutricional relativo ao selênio e a relação com polimorfismos nos genes da GPx são escassos na literatura. Os trabalhos investigando SNPs como o Pro198Leu são mais frequentes, entretanto o objetivo ou é estabelecer a diferença no risco para alguns tipos de cânceres ou determinar a prevalência dos diferentes genótipos nas populações, e não estabelecer correlações entre os marcadores bioquímicos do estado nutricional relativo ao selênio e os diferentes genótipos para os polimorfismos, o que dificulta a discussão dos resultados.

Em relação à prevalência dos polimorfismos nos genes da GPx na população, o mais estudado é o Pro198Leu. Suzen *et al*, 2009, resumiram as frequências dos genótipos e dos alelos para diferentes populações do mundo e constataram que na população japonesa e polonesa a frequência do genótipo variante TT é praticamente zero; para suecos, americanos, ingleses e alemães a frequência é de menos de 10%; para afroamericanos, canadenses e dinamarqueses a frequência é um pouco mais de 10%, e a maior frequência para o genótipo variante foi observada em turcos e finlandeses, a qual era de 14%. Este trabalho obteve uma frequência para o genótipo variante de apenas 3%, mais baixa do que a frequência encontrada para outras populações supracitadas, entretanto, parecida com a frequência encontrada para uma população de descendentes de africanos no Brasil (HIRAGI, 2011). No referido trabalho, foi realizada a genotipagem de vários polimorfismos em enzimas antioxidantes em 3 grupos étnicos diferentes, dentre eles o Pro198Leu, onde a frequência do genótipo variante foi bem baixa tanto para indígenas quanto para descendentes de africanos, porém na população residente no Distrito Federal, a frequência já foi similar a observada na população americana e canadense, de aproximadamente 10%.

Importante destacar que para populações em certas regiões da China, onde a doença de Keshan é endêmica, a frequência do genótipo variante é de 21,1%, a mais alta de todas as populações citadas, o que levou os autores a concluir que o genótipo variante para o polimorfismo Pro198Leu no gene da GPx1 aumenta o risco para a doença (CEI, 2010).

Iida, 2009, também estudou a frequência dos SNPs Pro198Leu, Arg5Pro, Pro126Leu, Arg146Cys e Phe128Leu em japoneses, alemães e xhosa. Assim como nos outros trabalhos supracitados, a frequência do genótipo variante Leu/Leu em japoneses para o Pro198 Leu foi zero, para alemães foi de 9,9% e para xhosa foi de 12,9%, indicando uma diferença étnica para a prevalência deste polimorfismo nas populações. Para o Arg5Pro, nos três grupos étnicos genotipados, 100% eram homozigotos para o alelo de referência, diferente dos nossos resultados, no qual apenas 40% tinham este genótipo. Para o Pro126Leu, nossos resultados foram muito

parecidos com os da população alemã, com aproximadamente 93% homozigotos para o alelo de referência e 7% heterozigotos, japoneses e xhosa eram 100% homozigotos selvagem. Para o Arg146Cys e Phe128Leu, em ambos os estudos 100% eram homozigotos selvagem. É importante enfatizar que resultados mais significativos na frequência destes polimorfismos seriam obtidos se o tamanho amostral fosse maior, e as correlações seriam mais evidentes se outros biomarcadores tivessem sido quantificados, como a atividade das enzimas separadamente.

Em relação ao SNP no gene da GPx4, localizado na região 3'UTR, poucos trabalhos investigaram sua frequência e a relação do mesmo com os biomarcadores do estado nutricional relativo ao selênio. Entretanto, os trabalhos existentes evidenciam que este polimorfismo tem consequências funcionais (VILLETE, 2002), e que, assim como mostram nossos resultados, o gênero influencia o comportamento dos marcadores antes e após a suplementação (MÉPLAN, 2008).

Jablonska, 2009, encontrou resultados semelhantes ao presente estudo em relação às diferenças no nível da correlação nos diferentes genótipos para o SNP Pro198Leu, entretanto as variáveis foram Se plasma e atividade da GPx. No genótipo CC (Pro/Pro) a correlação foi mais forte ($r=0,44$), caindo nos heterozigotos CT (Pro/Leu) ($r=0,35$) e sendo menor ainda para os homozigotos variantes TT (Leu/Leu) ($r=0,25$). Esses resultados mostram a importância de se avaliar a constituição genética dos indivíduos em estudos utilizando a atividade da enzima como biomarcador. No presente estudo, a resposta da atividade da enzima mesmo sem nenhum tipo de intervenção dietética, é diferente entre os genótipos quando separada pelo gênero. Nas mulheres, a atividade da enzima no genótipo variante TT (Leu/Leu) cai muito quando comparada com a atividade dos homens no mesmo genótipo, sugerindo uma influência significativa do gênero e do genótipo para esta variável. Há uma tendência de queda da atividade da GPx nas mulheres na presença do alelo variante T (Leu), que se comporta da seguinte maneira: Pro/Pro > Pro/Leu > Leu/Leu. Já nos homens, o comportamento é inverso: a atividade da GPx aumenta na presença do

alelo variante T (Leu), que se comporta da seguinte maneira: Leu/Leu > Pro/Leu > Pro/Pro. Apesar de haver tal tendência, a diferença estatística só foi observada para as mulheres.

As diferenças nas correlações entre o Se plasmático e eritrocitário foram mais marcantes e significativas quando os voluntários foram separados pelo gênero e genótipos. Nas mulheres, para os cinco SNPs estudados mais profundamente, as correlações foram mais fortes nos genótipos de referência; já para os homens apenas para dois SNPs (Arg5Pro e C718T) isso ocorreu; nos outros três (Pro126Leu, G-602A e Pro126Leu) elas foram mais fortes nos heterozigotos. Isso significa que se o Se plasmático estiver baixo, provavelmente o Se eritrocitário também estará, ainda que demore, pois a meia vida do eritrócito é de 120 dias, sugerindo uma diferença na regulação do metabolismo do selênio entre os gêneros, dependente do genótipo.

Os resultados mostrados neste estudo podem servir de evidência para destacar a importância em saber a constituição genética dos indivíduos nos estudos utilizando as variáveis Se plasmático, Se eritrocitário e atividade da GPx, como biomarcadores do estado nutricional relativo ao selênio, uma vez que os dados são claros quanto a diferença existente nas concentrações médias das variáveis entre os diferentes genótipos. Outra diferença que deve ser levada em consideração é o gênero. Neste trabalho os valores médios da atividade da GPx foi maior para as mulheres, sem considerar a diferença entre os genótipos. Quando o gênero e o genótipo para os diferentes SNPs foram considerados juntos, as diferenças foram ainda mais acentuadas, e correlações antes inexistentes apareceram. Estudos futuros são necessários para investigar o comportamento de todos esses fatores em conjunto, diante de uma intervenção dietética, como no caso de uma suplementação. Portanto, isto indica que provavelmente estas variáveis não podem ser analisadas somente na sua totalidade, e que análises mais profundas, levando em consideração o gênero e os genótipos, devem ser estimuladas para que o nosso entendimento da relação entre a dieta, genótipo e as variáveis bioquímicas seja aumentado.

7 CONCLUSÕES

- Os dados referentes ao consumo alimentar mostram que a ingestão de selênio deste grupo esta baixa, refletindo nas baixas concentrações observadas para os parâmetros bioquímicos Se plasmático e eritrocitário;
- A atividade da enzima GPx apresentou uma diferença entre os gêneros, sendo maior para as mulheres;
- Os resultados mostram claramente a relação fundamental entre as variáveis Se no plasma e Se no eritrócito, sendo essa relação dependente do gênero e genótipo dos indivíduos;
- Houve uma influência importante dos genótipos para os 5 SNPs estudados nas médias das variáveis bioquímicas, e diferenças adicionais fundamentais foram observadas quando os dados foram separados pelo gênero.

8 BIBLIOGRAFIA

ACHUTTI, A.; AZAMBUJA, M.I.R. Doenças Crônicas Não-Transmissíveis no Brasil: repercursões do modelo de atenção à saúde sobre a seguridade social. **Ciência Saúde Colet.**, v. 9, n. 4, p. 833-840, 2004.

AHN, J.; GAMMON, M.D.; SANTELLA, R.M.; GAUDET, M.M.; BRITTON, J.A.; TEITELBAUM, S.L.; TERRY, M.B.; NEUGUT, A.I.; AMBROSONE, C.B. No Association Between Glutathione Peroxidase Pro198Leu and breast cancer *Cancer Epidemiol Biom Prev.*, v.14, n.10, p.2459 – 61, 2005.

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

AL-TAIE, O.H.; UCEYLER, N.; EUBNER, U.; JAKOB, F.; MORK, H.; SCHEURLLEN, M.; BRIGELIUS-FLOHÉ, R.; SCHOTTKER, K.; ABEL, J.; THALHEIMER, A.; KATZEMBERGER, T.; ILLERT, B.; MELCHER, R.; KOHRLE, J. Expression Profiling and Genetic Alterations of the Selenoproteins GI-GPx and SePP in Colorectal Carcinogenesis. **Nutr. Cancer**, v. 48, n. 1, p. 6 – 14, 2004.

ARSOVA-SARAFINOVSKA, Z.; MATEVSKA, N.; EKEN, A.; PETROVSKI, D.; BANEV, S.; DZIKOVA, S.; GEORGIEV, V.; SIKOLE, A.; ERDEM, O.; SAYAL, A.; AYDIN, A.; DIMOVSKI, A. J. 2009. GPX1 genetic polymorphism erythrocyte GPX activity and prostate cancer risk. **Int. Urol. Nephrol.**, v. 41, n.1, p. 63 – 70, 2009.

BERMANO, G.; PAGMANTIDIS, V.; HOLLOWAY, N.; KADRI, S.; MOWAT, N.A.G.; SHIEL, R.S.; ARTHUR, J.R.; MATHERS, J.C.; DALY, A.K.; BROOM, J.; HESKETH, J.E. Evidence that a polymorphism within the 3'UTR of GPX4 is functional and is associated with susceptibility to colorectal cancer. **Genes Nutr.**, v. 2, n.2, p. 225-232, 2007.

BECKETT, G.J.; ARTHUR, J.R. Selenium and endocrine systems. **J. Endocrinol.**, v.184, p. 455-465, 2005.

BEHR, C.S. 2004. **Efeito de uma dieta enriquecida com castanha-do-brasil (*Bertholletia excelsa*,L.) no estado nutricional relativo ao selênio de idosos não institucionalizados.** 2004, 100f. Dissertação (Mestrado em Nutrição Humana Aplicada) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas – Universidade de São Paulo. São Paulo, 2004.

BIANCHI, M.L.P.; ANTUNES, L.M.G. Radicais livres e os principais antioxidantes da dieta. **Rev. Nutr. Camp.**, v.12, n.2, p. 123-130, 1999.

BLANKENBERG, S.; RUPPRECHT, H.J.; BICKEL, C.; TORZEWSKI, M.; HAFNER, G.; TIRET, L.; SMIEJA, M.; CAMBIEN, F.; MEYER, J.; LACKNER, K.J. GPx1 activity and cardiovascular events in patients with coronary artery disease. **N. Engl. J. Med.**, v.349, n.17, p.1605-13, 2003.

BORTOLI, M.C. **Avaliação dos níveis sanguíneos do hormônio tireoidiano ativo (T3) e do estado nutricional relativo ao selênio de mulheres residentes em área de exposição ao**

- mercúrio**. 2009. 130f. Tese de Doutorado – Faculdade de Ciências Farmacêuticas – Universidade de São Paulo. São Paulo, 2009.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Diretrizes e recomendações para o cuidado integral das DCNT**. Brasília, 2008.
- BRIGELIUS-FLOHÉ, R. Tissue specific regulation of individual glutathione peroxidases. **Free Rad. Biomol. Med.**, v.27, n.9/10, p.951-965, 1999.
- BROOKES, A.J. The essence of SNPs. **Gene**, v.234, n.2, p. 177-186, 1999.
- BROOME, C.S. An increase in selenium intake improves immune function and poliovirus handling in adults with marginal selenium status. **Am J Clin Nutr**; v.80, p.154-162, 2004.
- BROWN, K.M.; ARTHUR, J.R. Selenium selenoproteins and human health. **Public. Health Nutr.**, v.4, n.2B, p.593-599, 2001.
- BURK, R.F.; HILL, K.E. Selenoprotein P A selenium-rich extracellular glycoprotein. **J. Nutr**; v.124, P. 1891 – 1897, 1994.
- BURK, R.F.; Hill, K.E.; Motley, A.K. Selenoprotein metabolism and function. **J. Nutr**; v.133, p.1517S–1520S, 2003.
- BURK, R.F.; HILL, K.E. Selenoprotein P an extracellular protein with unique physical characteristics and a role in selenium homeostasis. **Ann. Rev. Nutr.**, v. 25, p. 215-235, 2005.
- CAI, Q.; SHU, X.; WEN, W.; CHENG, J.; DAI, Q.; GAO, Y.; ZHENG, W. Genetic polymorphism in the manganese superoxide dismutase gene, antioxidant intake, and breast cancer risk results from the Shanghai Breast Cancer Study. **Breast Cancer Res.**, v.6, p.647-655, 2004.
- CHEN, Y.; SOSNOSKI, D.M.; GANDHI, U.H.; NOVINGER, L.J.; PRABHU, K.S.; MASTRO, A.M. Selenium modifies the osteoblast inflammatory stress response to bone metastatic breast cancer. **Carcinogenesis**, v.30, n.11, p.1941-1948, 2009.
- COMINETTI, C. **Efeitos da suplementação com castanha-do-brasil (*Bertholletia excelsa* H.B.K.) sobre o estresse oxidativo em mulheres obesas e sua relação com o polimorfismo Pro198Leu no gene da glutathiona peroxidase 1**. 2010, 113f. Tese de Doutorado – Faculdade de Ciências Farmacêuticas – Universidade de São Paulo. São Paulo, 2010.
- COMINETTI, C.; BORTOLI, M.C.; PURGATTO, E.; ONG, T.P.; MORENO, F.S.; GARRIDO, A.B.; COZZOLINO, S.M.F. Associations between glutathione peroxidase-1 Pro198Leu polymorphism, selenium status, and DNA damage levels in obese women after consumption of Brazil nuts. **Nutrition**, v. n. , p. 1-6, 2011.
- COOPER, M.L.; ADAMI, H.; GRÖNBERG, H.; WIKLUND, F.; GREEN, F.R.; RAYMAN, M.P. Interaction between SNPs in selenoprotein P and mitochondrial superoxide dismutase determines prostate cancer risk. **Cancer Res.**, v. 68, n.24, p.10171-10177, 2008.
- COPELAND, P.R.; STEPANIK, V.A.; DRISCOLL, D.M. Insight into mammalian selenocysteine insertion. **Mol. Cell. Biol.**, v.21, n.5, p.1491-1498, 2001.

- COUTINHO, V.F. **Efeito da suplementação com castanha-do-brasil (*Bertholletia excelsa*) no estado nutricional de praticantes de capoeira em relação ao selênio.** 2003, 176 p. Tese de Doutorado – Faculdade de Ciências Farmacêuticas – Universidade de São Paulo. São Paulo, 2003.
- DRISCOLL DM, Copeland PR. Mechanism and regulation of selenoprotein synthesis **Annu. Rev. Nutr.**; n. 23, p. 17-40, 2003.
- DUFFIELD, A.J.; THOMSON, C.D.; HILL, K.E.; WILLIAMS, S. An estimation of selenium requirements for New Zealanders. **Am. J. Clin. Nutr.**, v.70, p.896-903, 2010.
- FAIRWEATHER-TAIT, S.; COLLINGS, R.; HURST, R. Selenium bioavailability: current knowledge and future research requirements. **Am. J. Clin. Nutr.**, v.91, p.1484S-1491S, 2010.
- FERREIRA, A.L.A.; MATSUBARA, L.S. Radicais livres, conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. **Rev. Ass. Med. Brasil**, v. 43, n.1, p. 61-68, 1997.
- FERREIRA, K.S.; GOMES, J.C.; BELLATO, C.R.; JORDÃO, C.P. Concentração de selênio em alimentos consumidos no Brasil. **Rev. Panam. Saúde Públ.**, v. 11, n.3, p. 172-177, 2002.
- FISBERG, R.M.; SLATER, B.; MARCHIONI, D.M.L.; MARTINI, L.A. **Inquéritos alimentares. Métodos e bases científicas.** 1ª ed. Barueri, São Paulo. Manole, 2005.
- FLOHÉ L et al . Selenium, the element of the moon in life on Earth. **IUBMB Life**; v.49, p. 411-420, 2000.
- GABRIEL, S.B. The structure of haplotype blocks in the human genome. **Science**, v. 296 n.5576, p. 2225-2229, 2002.
- GONZAGA, I.B. **Avaliação nutricional relativa ao selênio de crianças com dieta enriquecida com castanha-do-brasil (*Bertholletia excelsa*, L.).** 2002, 157f. Tese de Doutorado. Faculdade de Ciências Farmacêuticas – Universidade de São Paulo. São Paulo, 2002.
- GONZAGA, I.B.; MARTENS, A.; COZZOLINO, S.M.F. Selênio. In: COZZOLINO, S.M.F., 3ª ed. **Biodisponibilidade de Nutrientes.** Barueri: Manole, 2009. p.
- HA, E.J.; SMITH, A.M. Plasma Selenium and Plasma and Erythrocyte Glutathione Peroxidase Activity Increase with Estrogen. **J. Am. Coll. Nutr.**, v.22, n.1, p. 43-51, 2003.
- HALLIWELL, B.; CHIRICO, S. Lipid peroxidation: its mechanism, measurement and significance. **Am. J. Clin. Nutr.**, v.57(suppl), p. 715S-725S, 1993.
- HAMANASHI, T.; FURUTA, H.; KATO, H.; DOI, A.; TAMAI, M.; SHIMOMURA, H.; SAKAGASHIRA, S.; NISHI, M.; SASAKI, H.; SANKE, T.; NA, K. Functional variants in the GPX1 gene are associated with increased intima media thickness of carotid arteries and risk of macrovascular disease. **Diabetes**, v.53, n.9, p.2455-2460, 2004.
- HESKETH, J. Nutrigenomics and selenium - gene expression patterns, physiological targets and genetics. **Annu. Rev. Nutr.**, v.28, p.157-177, 2008.

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

HOLBEN, D.H.; SMITH, A.M. The diverse role of selenium within selenoproteins. **JADA**, v.99, n.7, p.836-843, 1999.

HURST,R.; ARMAH, C.H.; DAINTY, J.R.; HART, D.J.; TEUCHER, B.; GOLDSOON, A.J.; BROADLEY, M.R.; MOTLEY, A.K.; FAIRWEATHER-TAIT, S. Establishing optimal selenium status: results of a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. **Am. J. Clin. Nutr.**, v. 91, p.923-931, 2010.

IIDA, R.; TSUBOTA, E.; YUASA, I.; TAKESHITA, H.; YASUDA, T. Simoultaneous genotyping of 11 non-synonymous SNPs in the 4 glutathione peroxidase genes using the multiplex-single base extension method. **Clin. Chim. Acta**, v.402, n.1-2, p. 79-82, 2009.

IMAI, H.; NAKAGAWA, Y. Biological significance of GPX4 in mammalian cells. **Free Rad. Biomol. Med.**, v.34, n.2, p.145-169, 2003.

INSTITUTE OF MEDICINE. NATIONAL ACADEMY PRESS. **Dietary Reference Intakes for Energy, Carbohydrate, Fiber, Fat, Fatty Acids, Cholesterol, Protein, and Amino Acids (Macronutrients)**. Washington: National Academy Press, 2005. p. 1352 e 1358.

INSTITUTE OF MEDICINE. NATIONAL ACADEMY PRESS. **Dietary Reference Intakes for Vitamin C, vitamin E, selenium, and carotenoids**. Washington: National Academy Press, 2005. p.284-324.

JABLONSKA, E.; GROMADZINSKA, J.; SOBALA, W.; RESZKA, E.; WASOWICZ, W. Lung cancer risk associated with selenium status is modified in smoking individuals by Sep15 polymorphism. **Eur. J. Nutr.**, v.47, p.47-54.

JABLONSKA, E.; GROMADZINSKA, J.; RESZKA, E.; WASOWICZ, W.; SOBALA, W.; SZESZENIA-DABROWSKA, N.; BOFFETTA, P. 2009. Association between Gpx1 Pro198Leu polymorphism, Gpx1 activity and plasma selenium concentrations in humans. **Eur. J. Nutr.**, maio, 2009.

JACOBSON, G.A.; NARCOWICZ, C.; TONG, Y.C.; PETERSON, G.M. Plasma GPX by elisa and relationship to selenium level. **Clin. Chim. Acta**, v.369, n.1, p.100 – 103, 2006.

KAPUT, J.; RODRIGUEZ, R.L. Nutritional genomics: The next frontier in the post-genomic era. **Physiol. Genomics**, v.16, n.2, p.166-177, 2004.

KAUWELL, G.P.A. Emerging concepts in nutrigenomics: A preview of what is to come. **Nutr. Clin. Pract.**, v.20, n.1, p.75-87, 2005.

KUZUYA, M.; ANDO, F.; IGUCHI, A.; SHIMOKATA, H. Glutathione peroxidase 1 Pro198Leu variant contributes to the metabolic syndrome in men in a large Japanese cohort. **Am. J. Clin. Nutr.**, v. 87, p.1939-1944, 2008.

- KRYUKOV, G.V.; CASTELLANO, S.; NOVOSELOV, S.V.; LOBANOV, A.V.; ZEHTAB, O.; GUIGÓ, R.; GLADYSHEV, V.N. Characterization of mammalian selenoproteomes. **Science**, v.300, n.5624, p. 1439-1443, 2003.
- LANDER, E.S.; LINTON, L.M. ; BIRREN, B.; et al. Initial sequencing and analysis of the human genome. **Nature**, v. 409, n.6822, p. 860-921, 2001.
- LEI XG, CHENG, W.; MCCLUNG, J.P. Metabolic regulation and function of GPX1. **Annu. Rev. Nutr.**, v.27, p. 41-61, 2007.
- LOW, S.C.; BERRY, M.J. Knowing when not to stop - selenocysteine incorporations in eukaryotes. **Trends Biochem. Sci.**, v.21, n.6, p. 203-208, 1996.
- LOW, S.C.; GRUNDNER-CULEMANN, E.; HARNEY, J.W.; BERRY, M.J. SECIS-SBP2 interactions dictate selenocysteine incorporation efficiency and selenoprotein hierarchy. **EMBO J.**, v. 19, n. 24, p. 6882-6890, 2000.
- McKENZIES, R.C.; RAFFERTY, T.S.; BECKETT, G.J. Selenium an essential element for immune function. **Immunol. Today**, v.19, n.8, p.342-345, 1998.
- MAIA, C.S.C. **O selênio e a glândula tireóide: um estudo em pacientes portadores de disfunções tireoidianas nos estados de Ceará e São Paulo.** Tese de Doutorado – Faculdade de Ciências Farmacêuticas – Universidade de São Paulo. São Paulo, 2008. 117p.
- MASSAFRA, C.; GIOIA, D.; DE FELICE, C.; MUSCETTOLA, M.; LONGINI, M.; BUONOCORE, G. Gender related differences in erythrocyte GPx activity in healthy subjects. **Clinical Endocrinol.** v.57, p. 663–667, 2002.
- MÉPLAN, C.; CROSLY, L.K.; NICOL, F.; HORGAN, G.W.; MATHERS, J.C.; ARTHUR, J.R.; HESKETH, J.E. Functional effects of a common single-nucleotide polymorphism (GPX4c718t) in the glutathione peroxidase 4 gene: interaction with sex. **Am. J. Clin. Nutr.**, v. 87, n.4, p. 1019-1027, 2008.
- MÉPLAN, C.; HUGHES, D.J.; PARDINI, B.; NACCARATI, A.; SOUCEK, P.; VODICKOVA, L.; HLAVATA, I.; VRANA, D.; VODICKA, P.; HESKETH, J.E. 2010. Genetic variants in selenoprotein genes increase risk of colorectal cancer. **Carcinogenesis**, v.31, n.6, p.1074-1079, 2010.
- MIKHAK, B.; HUNTER, D.J.; SPIEGELMAN, D.; PLATZ, E.A.; WU, K.; ERDMAN, J.W.; GIOVANNUCCI, E. Manganese superoxide dismutase (MnSOD) gene polymorphism, interactions with carotenoid levels and prostate cancer risk. **Carcinogenesis**, v.29, n.12, p.2335-2340, 2008.
- MONTANO, M.A.E.; LERA, J.P.B.; GOTTLIEB, M.G.V.; SCHWANKE, C.H.A.; ROCHA, M.I.U.M.; MANICA-CATTANI, M.F.; SANTOS, G.F.; CRUZ, I.B.M. Association between manganese superoxide dismutase (MnSOD) gene polymorphism and elderly obesity. **Mol. Cell. Biochem.**, v.328, p.33-40, 2009.

MOSCOW, J.A.; SCHMIDTL, L.; INGRAM, D.T.; GNARRA, J.; JOHSON, B.; COWAN K. H. Loss of heterozygosity of the human cytosolic glutathione peroxidase 1 gene in lung cancer. **Carcinogenesis**, v. 15, n. 12, p. 2769 – 2773, 1994.

MURPHY, S.P.; POOS, M.I. Dietary Reference Intakes: summary of applications in dietary assessment. **Public Health Nutrition**, v.5, n.6a, p.843–849, 2002.

NAKANISHI, S.; YAMANE, K.; OHISHI, W.; NAKASHIMA, R.; YONEDA, M.; NOJIMA, H.; WATANABE, H.; KOHNO, N. Manganese superoxide dismutase Ala16Val polymorphism is associated with the development of type 2 diabetes in Japanese-Americans. **Diabetes Res. Clin. Pract.**, v.81, p.381-385, 2008.

National Institute for Biotechnology Information. **dbSNP DataBase**. Disponível em: (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP>). Acessado em 15 de julho de 2009.

PAGLIA, D.E.; VALENTINE, W.N. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase **J. Lab. Clin. Med.**, v. 70, p. 158-169, 1967.

PAPP, L.V.; LU, J.; HOLMGREN, A.; KHANNA, K.K. From Selenium to Selenoproteins: Synthesis, Identity, and Their Role in Human Health. **Antiox. Redox Signal.**, v.9, n.7, p.776-806, 2007.

PASTERNAK, J.J. Genetic and physical mapping of the human genome. In: PASTERNAK, J.J. **An Introduction to Human Molecular Genetics**. Canadá: Wiley-Liss, 2005. p. 153-187.

PETERS, U.; CHATTERJEE, N.; HAYES, R.B.; SCHOEN, R.E.; WANG, Y.; CHANOCK, S.J.; FOSTER, C.B. Variation in the Selenoenzyme Genes and Risk of Advanced Distal Colorectal Adenoma. **Cancer Epydemiol. Biomark. Prev.**, v.17, n.5, p.1144-1154, 2008.

PETERS, U.; TAKATA, Y. Selenium and the prevention of prostate and colorectal cancer. **Mol. Nutr. Food Res.**, v.52, n.11, p.1261-1272, 2008.

PIRES, L.V. **Estado nutricional relativo ao zinco e ao selênio de pacientes com Síndrome de Turner em diferentes fases do desenvolvimento**. São Paulo, 2008. 102p. Dissertação de Mestrado – Faculdade de Ciências Farmacêuticas – Universidade de São Paulo.

PolyPhen: prediction of functional effects of human nsSNPs. Disponível em: <http://genetics.bwh.harvard.edu/pph/>. Acessado em 16 de julho de 2009.

RAASCHOU-NIELSEN, O.; SORENSEN, M.; HANSEN, R.D.; FREDERIKSEN, K.; TJONNELAND, A.; OVERVAD, K.; VOGEL, U. GPx1 Pro198Leu polymorphism, interactions with smoking and alcohol consumption, and risk for lung cancer. **Cancer Letters**, v.247, p. 293–300, 2006.

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

RATNASINGHE, D.; TANGREA, J.A.; ANDERSEN, M.R.; BARRET, M.J.; VIRTAMO, J.; TAYLOR, P.R.; ALBANES, D. Glutathione peroxidase codon 198 polymorphism variant increases lung cancer risk. **Cancer Res.**, v.60, p.6381-6383, 2000.

- RAVN-HAREN, G.; OLSEN, A.; TJONNELAND, A.; DRAGSTED, L.O.; NEXO, B.A.; WALLIN, H.; OVERVAD, K.; RASCHOU-NIELSEN, O.; VOGEL, U. Associations between GPX1 Pro198Leu polymorphism, erythrocyte GPX activity, alcohol consumption and breast cancer risk in a prospective cohort study. **Carcinogenesis**, v. 27, n. 4, p. 820 – 825, 2006.
- RAYMAN MP. The importance of selenium to human health. **Lancet**; v.356, p.233-241, 2000.
- RAYMAN MP. Selenium in cancer prevention. **Proc. Nutr. Soc.**; v.64, p.527-542, 2005.
- RAYMAN, M.P.; INFANTE, H.G.; SARGENT, M. 2008. Food-chain selenium and human health spotlight on speciation. **Br. J. Nutr.**, v. 100, p.238-253, 2008.
- ROCHA, A. V. **Estado nutricional relativo ao selênio de crianças residentes em duas localidades de Rondônia, Amazônia ocidental**. Dissertação de Mestrado – Faculdade de Ciências Farmacêuticas – Universidade de São Paulo. São Paulo, 2009. 114p.
- ROTRUCK, J.T.; POPE, A.L.; GANTHER, H.E.; et al. Selenium Biochemical role as a component of glutathione peroxidase. **Science**; v.179, p. 588-590, 1973.
- SAVASKAN, N.E.; UFER, C.; KÜHN, H.; BORCHERT, A. Molecular biology of glutathione peroxidase 4: from genomic structure to developmental expression and neural function. **Biol. Chem.**, v. 388, p. 1007 – 1017, 2007.
- SCHOMBURG, L.; SCWEIZER, U. Hierarchical regulation of selenoprotein expression and sex-specific effects of selenium. **Bioch. Biophys. Acta**, v.1790, p.1453-1462, 2009.
- SCHORK, N.J.; FALLIN, D.; LANCHBURY, S. Single nucleotide polymorphisms and the future of genetic epidemiology. **Clin. Genet.**, v. 58, n.4, p. 250-264, 2000.
- STOCKLER-PINTO, M.B. **Efeito da suplementação com castanha-do-brasil (*Bertholletia excelsa*) como fonte de selênio para pacientes em hemodiálise**. Dissertação de Mestrado – Faculdade de Ciências Farmacêuticas – Universidade de São Paulo. São Paulo, 2009. 79p.
- SUNDE, R.A. Molecular biology of selenoproteins. **Annu. Rev. Nutr.**; v.10, p. 451-474, 1990.
- SUZEN, H.S.; GUCYENER, E.; SAKALLI, O.; UCKUN, Z.; KOSE, G.; USTEL, D.; DUYDU, Y. CAT C-262T and GPX1 Pro198Leu polymorphisms in a Turkish population. **Mol. Biol. Reprod.**, 2009.
- SYVÄNEN, A. Accessing genetic variation: genotyping single nucleotide polymorphisms. **Nature Rev. Genet.**, v.2, n.12, p.930-942, 2001.
- The International SNP Map Working Group. A map of human genome sequence containing 1,42 million of SNP. **Nature**, v.409, n.6822, p.928-934, 2001.
- The Universal Protein Resource. Disponível em: <http://www.uniprot.org/>. Acessado em 16 de julho de 2009.

- THOMAS, J.P.; MAIORINO, M.; URSINI, F.; GIROTTI, A.W. Protective action of phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase against membrane damaging lipid peroxidation. **J. Biol. Chem.**, v. 265, n. 1, p. 454 – 461, 1990.
- THOMPSON, C.D.; CISHOLM, A.; McLACHLAN, S.K.; CAMPBELL, J.M. 2008. Brazil nuts an effective way to improve selenium status. **Am. J. Clin. Nutr.**, v.87, p.379-384, 2008.
- YANG, G.; WANG, S.; ZHOU, R.; SUN, S. Endemic selenium intoxication of humans in China. **Am. J. Clin. Nutr.**, v.37, p.872-881, 1983.
- VENTER, J.C.; ADAMS, M.D.; MYERS, E.W.; et al. The sequence of the human genome **Science**, v. 291, n. 5507, p. 1304-1351, 2001.
- VERSIECK, J. ; CORNELIS, R. **Trace elements in human plasma and serum**. Boca Raton : CRC Press, 1989.
- VILLETTE, S. ; KYLE, J.A.M. ; BROWN, K.M. et al. A novel single nucleotide polymorphism in the 3' UTR of human GPX4 influences lipoxigenase metabolism. **Blood Cell. Mol. Dis.**, v.29, n.2, p. 174-178, 2002.
- VUNTA, H.; DAVIS, F.; PALEMPALLI, U.D.; BHAT, D.; ARNER, R.J.; THOMPSON, J.T.; PETERSON, D.G.; REDDY, C.C.; PRABHU, K.S. 2007. The anti-inflammatory effects of selenium are mediated through 15-Deoxy-prostaglandin J2 in macrophages. **J. Biol. Chem.**, v.282, n.25, p.17964-17973, 2007.
- XIA, Y.; HILL, K.E.; BYRNE, D.W.; XU, J.; BURK, R.F. Effectiveness of selenium supplements in a low-selenium area of china. **Am. J. Clin. Nutr.**, v.81, p.829-834, 2005.
- XIONG, Y.; MO, X.; ZOU, X.; SONG, R.; SUN, W.; LU, W.; CHEN, Q.; YU, Y.; ZANG, W.2010. Association Study between Polymorphisms in Selenoprotein Genes and Susceptibility to Kashin-Beck Disease. **Osteoarth. Cartilage**, 2010.
- WANG, Z.; MOULT, J. SNPs, protein structure and disease. **Hum. Mut.**, v. 17, n. 4, p 263-270, 2001.
- WANG, S.; WANG, F.; SHI, X.; DAI, J.; PENG, Y.; GUO, X.; WANG, X.; SHEN, H.; HU, Z. Association between manganese superoxide dismutase (MnSOD) Val-9Ala polymorphism and cancer risk. **Eur. J. Cancer**, v.45, p.2874-2881, 2009.
- WERZ, O.; STEINHILBERG, D. Selenium-dependent peroxidases suppress 5-lipoxygenase activity in B-lymphocytes and immature myeloid cells. **Eur. J. Biochem.**, v. 242, p. 90-97, 1996.
- WEITZEL, F.; WENDEL, A. Selenoenzymes Regulate the Activity of Leukocyte 5-Lipoxygenase via the Peroxide Tone. **J. Biol. Chem.**, v. 268, n.9, p.6288-6292, 1993.
- WILLET, W.C. Issues in analysis and presentation of dietary data. In:_____. **Nutritional epidemiology**. 2ed. New York: Oxford University Press, 1998. P.321-345. (Monographs in epidemiology and biostatistics, v.30).

WINGLER, K.; BRIGELIUS-FLOHÉ, R. Gastrointestinal glutathione peroxidase. **BioFactors**, v.10, p. 245-249, 1999.

9 ANEXOS OBRIGATÓRIOS

9.1 Cópia do Parecer do Comitê de Ética em pesquisa

9.2 Curriculum Lattes

9.3 Ficha do aluno

9.4 Informações para os membros de Bancas Julgadoras de Mestrado/Doutorado



UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
Comitê de Ética em Pesquisa

PARECER CONSUBSTANCIADO

Parecer CEP/FCF/121/2009
Protocolo CEP/FCF/524
CAAE: 0023.0.018.000-09

I - Identificação:

Projeto de Pesquisa: Correlação entre polimorfismos de nucleotídeo único presentes nos genes da glutatona peroxidase e relação com biomarcadores do estado nutricional relativo ao selênio

Pesquisador Responsável: Janaina Lombello Santos Donadio

Orientador: Profa. Dra. Sílvia Maria Franciscato Cozzolino

Instituição: Faculdade de Ciências Farmacêuticas da USP

Área Temática Especial: -

Patrocinadores: CNPq

II - Sumário Geral do Protocolo:

As doenças crônicas não transmissíveis (DCNT) estão entre as morbidades que mais atingem a população atualmente, destacando-se o diabetes melito, doenças respiratórias crônicas, câncer e doenças cardiovasculares. Os principais fatores de risco estão no estilo de vida ocidental, com destaque para alimentação, sedentarismo, além da predisposição genética. A maioria destas DCNT leva ao aumento do estresse oxidativo e, conseqüentemente, das espécies reativas de oxigênio e de nitrogênio. O principal sistema de defesa do organismo contra os efeitos nocivos destas espécies reativas é o enzimático, composto pelas enzimas catalase, superóxido dismutase e glutatona peroxidase; sendo que nos mamíferos o mais importante é o da glutatona peroxidase. Posteriormente ao sequenciamento do genoma humano, um dos grandes desafios atuais é identificar polimorfismos, que em conjunto ou isoladamente, alterem o metabolismo e a função das proteínas. Nesse contexto, o objetivo deste trabalho será correlacionar polimorfismos nos genes da glutatona peroxidase e biomarcadores do estado nutricional relativo ao selênio. Serão identificados polimorfismos de nucleotídeo único (SNP) presentes na região codificadora dos quatro genes que codificam a enzima glutatona peroxidase: GPX1, GPX2, GPX3 e GPX4, e um SNP na região 3' não codificadora (3'UTR) do gene da GPX4 os quais serão correlacionados com os biomarcadores do estado nutricional relativo ao selênio. O estudo será realizado com aproximadamente 80 indivíduos, de ambos os gêneros, com idade entre 20 a 50 anos, sem doenças hepáticas, cardiovasculares e câncer. Os participantes responderão a um questionário de informações pessoais; o consumo alimentar será avaliado por um recordatório de 24 horas e três registros alimentares; o estado nutricional de selênio será avaliado pela determinação da concentração do mineral no eritrócito e no plasma, além da atividade da GPX no eritrócito; e os polimorfismos supracitados serão identificados pelo sistema Taqman, o qual se baseia na análise *end-point* da RT-PCR, com primers e sondas específicas para cada SNP.

O objetivo do presente estudo será a correlação entre os SNP presentes na região codificadora de quatro genes que codificam a enzima glutatona peroxidase com os biomarcadores do estado nutricional relativo ao selênio.

Tipo de estudo: transversal



UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÉUTICAS
Comitê de Ética em Pesquisa

Descrição da Casuística

O estudo será realizado com 80 indivíduos, de ambos os sexos, com idade entre 20 a 50 anos. A população será recrutada dentro da Universidade de São Paulo. No dia da coleta de sangue será aplicado um questionário (anexo 1) para compilar todas as informações pessoais dos participantes, como nome, gênero, idade, nível de escolaridade e renda, atividade física etc.

Os critérios de exclusão são: uso de suplementos vitamínicos e minerais, antiinflamatórios, idade abaixo de 20 ou acima de 50 anos, atletas de elite, consumo crônico de álcool (diariamente), tabagismo, doenças hepáticas e cardiovasculares.

III – Situação do Protocolo: **APROVADO em reunião de 28/09/2009.**

Cabe ao pesquisador:

- Comunicar ao CEP:
 - a ocorrência de efeitos colaterais e ou de reações não esperadas;
 - eventuais modificações no projeto aguardando a apreciação e aprovação do CEP;
 - a interrupção do projeto.
- Apresentar relatórios: parcial (após 50% da execução do projeto) e final.

São Paulo, 29 de setembro de 2009.


 Profa. Dra. Elvira Maria Guerra Shinohara
 Coordenadora do Comitê de Ética em Pesquisa
 CEP/FCF/USP

Página 2

Janaina Lombello Santos Donadio

Nutricionista formada pela Faculdade de Saúde Pública da USP, atualmente é mestranda em Ciências dos Alimentos na Faculdade de Ciências Farmacéuticas da Universidade de São Paulo. Trabalha com avaliação nutricional de populações e a relação entre polimorfismos e micronutrientes, principalmente selênio.

(Texto informado pelo autor)

Última atualização em 14/07/2011

Endereço para acessar este CV:
<http://lattes.cnpq.br/09168823336382409>

Dados Pessoais

Nome Janaina Lombello Santos Donadio

Filiação Pedro Roberto Donadio e Sílvia de Sousa Santos

Nascimento 06/11/1982 - São Paulo/SP - Brasil

Carteira de Identidade 295747889 asp - SP - 10/04/2001

CPF 32597376850

Endereço residencial Rua Padre Pacheco, 219
 Vila Sônia - São Paulo
 05627-010 - SP - Brasil
 Telefone: 11 73928053

Endereço profissional Universidade de São Paulo, Faculdade de Ciências Farmacéuticas
 Av. Prof. Lineu Prestes, 589 - Bloco 14 - Laboratório de Nutrição e Minerais
 Butantã - São Paulo
 05508-900, SP - Brasil
 Telefone: 11 30913625

Endereço eletrônico e-mail para contato: janainalombello@usp.br
 e-mail alternativo: janaina.lombello@yaho.com.br

Formação Acadêmica/Titulação

- 2009** Mestrado em Ciências dos Alimentos
 Universidade de São Paulo - USP, São Paulo, Brasil
 Título: Associação entre polimorfismos nos genes da glutatona peroxidase e biomarcadores do estado nutricional relativo ao selênio em população saudável
 Orientador: Sílvia Maria Franco Lora Cruz Lora 
 Bolsista do(a): Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo
- 2003 - 2007** Graduação em Nutrição
 Universidade de São Paulo - Faculdade de Saúde Pública - USP - FSP, São Paulo, Brasil

Formação complementar

- 2011 - 2011** Curso de curta duração em Genotipagem de SNPs - Devativos e Aplicações
 Life Technologies, LT, Brasil
- 2011 - 2011** Curso de curta duração em Estatística - Metodologias
 Sociedade Brasileira de Alimentação e Nutrição - SBAN, São Paulo, Brasil
- 2010 - 2010** Educação Continuada
 Life Technologies, LIFE TEC, São Paulo, Brasil
- 2009 - 2009** Curso de curta duração em Fundamentos e Uso prático da PCR em Tempo Real
 Roche Brasil - ROCHE, Brasil
- 2009 - 2009** Curso de curta duração em Pipetas - Informações e Cuidados Gerais
 Eppendorf do Brasil, EPPENDORF, Brasil

2009 - 2009	Curso de curta duração em Alimentação e suplementação na modalidade CORRIDA. GlobalNutri, GLOBALNUTRI, Brasil
2009 - 2009	Curso de curta duração em Aprimoramentos em Nutrição do Esporte, módulos 1-3 GlobalNutri, GLOBALNUTRI, Brasil
2009 - 2009	Fundamentos da PCR Quantitativa em Tempo Real Life Technologies - LIFE TEC, São Paulo, Brasil
2009 - 2009	Curso de curta duração em Alimentação e suplementação na modalidade MUSCULAÇ GlobalNutri, GLOBALNUTRI, Brasil
2009 - 2009	Genotipagem de SNPs por PCR em Tempo Real Life Technologies - LIFE TEC, São Paulo, Brasil
2007 - 2007	Curso de curta duração em I Simpósio de Pesquisa e ensino em Nutrição/Faculdade de Ciências Farmacéuticas, FCF - USP, Brasil
2007 - 2007	Extensão universitária em Projeto Rondon, Universidade de São Paulo, USP, São Paulo, Brasil
2006 - 2006	Extensão universitária em Jornada Científica Acadêmicos de Nutrição Universidade de São Paulo - USP, São Paulo, Brasil
2005 - 2005	Curso de curta duração em Bioquímica da Nutrição no Esporte Faculdade de Ciências Farmacéuticas, FCF - USP, Brasil
2005 - 2005	Curso de curta duração em Biologia Molecular aplicada à Nutrição Sociedade Brasileira de Alimentação e Nutrição - SBAN, São Paulo, Brasil
2004 - 2004	Curso de curta duração em Nutrição nas Despedidas Faculdade de Saúde Pública - USP, FSP - USP, Brasil

Atuação profissional

01/2004 - 07/2011

Vínculo institucional

2006 - 2008	Vínculo estágio - Enquadramento funcional: inscrição científica, FAPESP, Carga horária: 25, Regime: Parcial
2004 - 2006	Vínculo estágio - Enquadramento funcional: estagiário - inscrição científica CNPQ, Carga horária: 20, Regime: Parcial

Atividades

2009 - Atual	Projetos de pesquisa, Faculdade de Ciências Farmacéuticas - Universidade de São Paulo <i>Participação em projetos: Associação entre polimorfismos nos genes do glutatona peroxidase e biomarcadores do estresse nutricional - metabólico síndrome em população saudável</i>
10/2007 - 12/2007	Estágio - Associação Pró-Oleio <i>Estágio</i> <i>Estágio curricular de Experiência em Microanatomia e Microscopia realizada na ONO Associação Pró-Oleio</i>
08/2007 - 10/2007	Estágio - Associação Pró-Oleio <i>Estágio</i> <i>Estágio de Nutrição de Grupos Populacionais na pesquisa na ONO Associação Pró-Oleio</i>
05/2007 - 07/2007	Estágio - Hospital das Clínicas - F.M.S.P. <i>Estágio</i> <i>Estágio curricular de estágio Curricular em Hospitais, F.M.S.P. no Hospital Central do Hospital das Clínicas</i>
03/2007 - 05/2007	Estágio - Universidade de São Paulo <i>Estágio</i> <i>Estágio curricular de Nutrição Institucional realizado no Hospital Central do Hospital das Clínicas</i>
08/2006 - 01/2008	Projetos de pesquisa, Faculdade de Ciências Farmacéuticas - Universidade de São Paulo <i>Participação em projetos: Mutação no gene interleucina-13 e níveis de citocinas relacionadas ao metabolismo em várias temperaturas</i>

06/2005 - 07/2006 Projetos de pesquisa, Faculdade de Ciências Farmacêuticas - Universidade de São Paulo
Participação em projetos.
Avaliação do consumo alimentar e do estado nutricional relativo ao zinco em pré-escolares.

10/2004 - 07/2005 Estágio, Faculdade de Ciências Farmacêuticas - Universidade de São Paulo
Estágio:
inscrição de dados de zinco no Virtual Nutri; digitação de registros alimentares no VirtualNutri;

Projetos

2009 - Atual Associação entre polimorfismos nos genes da glutatona peroxidase e biomarcadores do estado nutricional relativo ao selênio em população saudável

Situação: Em Andamento Natureza: Pesquisa
Alunos envolvidos: Mestrado acadêmico (1);
Integrantes: Janaina Lombello Santos Donadio; Silvia Maria Franciscato Cozzolino (Responsável);
Financiador(es): Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo-FAPESP, Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo-FAPESP

2007 - 2008 Identificação de genes diferencialmente expressos em bananas submetidas ao tratamento em baixas temperaturas

Situação: Concluído Natureza: Pesquisa
Alunos envolvidos: Graduação (1);
Integrantes: Janaina Lombello Santos Donadio; Eduardo Pargatto (Responsável);
Financiador(es): Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo-FAPESP

2005 - 2006 Avaliação do consumo alimentar e do estado nutricional relativo ao zinco em pré-escolares.

Situação: Concluído Natureza: Pesquisa
Alunos envolvidos: Graduação (1);
Integrantes: Janaina Lombello Santos Donadio; Silvia Maria Franciscato Cozzolino (Responsável);
Financiador(es): Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico-CNPq

Áreas de atuação

1. Análise Nutricional de População
2. Polimorfismos
3. Micronutrientes
4. Bioquímica da Nutrição

Idiomas

Inglês Compreendo Bem ; Fala Bem ; Escrevo Bem ; Lê Bem

Página gerada pelo Sistema Currículo Lattes em 15/08/2011 às 09:00:01.

Janus

- Sistema Administrativo da Pós-Graduação



Universidade de São Paulo
Faculdade de Ciências Farmacêuticas
Documento sem validade oficial

FICHA DO ALUNO

9132 - 4936001/1 - Janaina Lombello Santos Donadio

Email: janainalombello@usp.br
Data de Nascimento: 08/11/1982
Cédula de Identidade: RG - 295747869 - SP
Local de Nascimento: Estado de São Paulo
Nacionalidade: Brasileira
Graduação: Nutricionista - Faculdade de Saúde Pública - Universidade de São Paulo - São Paulo - Brasil - 2008

Curso: Mestrado
Programa: Ciência dos Alimentos
Área: Nutrição Experimental
Data de Matrícula: 19/02/2009
Início da Contagem de Prazo: 19/02/2009
Data Limite: 19/08/2011
Orientador: Prof(a). Dr(a). Mariene de Vuono Camargo Penteado - 19/02/2009 a 02/09/2009
 E-Mail: devuono@usp.br
Orientador: Prof(a). Dr(a). Silvia Maria Franciscato Cozzolino - 03/09/2009 até o presente. E-Mail: smfcozzo@usp.br
Proficiência em Línguas: Inglês, Aprovado em 21/10/2010
Data de Aprovação no Exame de Qualificação: Aprovado em 10/02/2011

Data do Depósito do Trabalho:
Título do Trabalho:

Data Máxima para Aprovação da Banca:
Data de Aprovação da Banca:

Data Máxima para Defesa:
Data da Defesa:
Resultado da Defesa:

Histórico de Ocorrências: Ingressou no Mestrado em 19/02/2009
 Matrícula de Acompanhamento em 10/02/2011

Última ocorrência: Matrícula de Acompanhamento em 10/02/2011
 Impresso em: 10/05/11 11:29:09

Janus

- Sistema Administrativo da Pós-Graduação



Universidade de São Paulo
Faculdade de Ciências Farmacêuticas
Documento sem validade oficial

FICHA DO ALUNO

9132 - 4936001/1 - Janaina Lombello Santos Donadio

Sigla	Nome da Disciplina	Início	Término	Carga Horária	Cred.	Freq.	Conc.	Exc.	Situação
FBA5902-1/1	Aplicações da Biologia Molecular em Alimentos	02/03/2009	06/04/2009	60	4	92	A	N	Concluída
FBA5724-4/1	Nutrição Experimental II	02/03/2009	12/04/2009	90	0	0	-	N	Turma cancelada
HEP5732-12/1	Bioestatística I (Faculdade de Saúde Pública - Universidade de São Paulo)	03/03/2009	07/04/2009	30	2	100	A	N	Concluída
FBA5729-3/1	Nutrição e Metabolismo na Atividades Física	23/03/2009	26/04/2009	75	5	100	A	N	Concluída
HEP5750-5/1	Bioestatística II (Faculdade de Saúde Pública - Universidade de São Paulo)	14/04/2009	26/05/2009	45	3	100	A	N	Concluída
HNT5710-4/3	Micronutrientes em Estudos Populacionais (Faculdade de Saúde Pública - Universidade de São Paulo)	05/05/2009	16/06/2009	30	0	0	-	N	Matrícula cancelada
NHA5705-2/2	Fundamentos da Biologia Molecular Aplicados à Nutrição Humana (Curso Interunidades: Nutrição Humana Aplicada - Universidade de São Paulo)	05/05/2009	08/06/2009	60	0	0	-	N	Matrícula cancelada
HNT5709-4/3	Dietas e Doenças Crônicas não Transmissíveis (Faculdade de Saúde Pública - Universidade de São Paulo)	21/08/2009	28/09/2009	30	0	0	-	N	Matrícula cancelada
FBA5901-1/2	Tópicos Avançados em Nutrigenômica	09/09/2009	12/10/2009	30	2	90	A	N	Concluída
HNT5759-1/1	Nutrigenômica no Contexto das Doenças Crônicas não Transmissíveis (Faculdade de Saúde Pública - Universidade de São Paulo)	05/10/2009	09/11/2009	60	4	96,7	A	N	Concluída
FBA5712-5/2	Fisiologia da Nutrição I	01/03/2010	11/04/2010	90	0	0	-	N	Pré-matrícula indeferida
FBA5712-5/3	Fisiologia da Nutrição I	19/04/2010	30/05/2010	90	6	100	A	N	Concluída
FBA5897-1/1	Nutrigenômica do Câncer	30/06/2010	05/09/2010	30	2	75	A	N	Concluída

	Créditos mínimos exigidos		Créditos obtidos
	Para exame de qualificação	Para depósito da dissertação	
Disciplinas:	25	25	28
Atividades Programadas:			
Seminários:			
Estágios:			
Total:	25	25	28

Créditos Atribuídos à Dissertação: 71

<p>Conceito a partir de 02/01/1997: A - Excelente, com direito a crédito; B - Bom, com direito a crédito; C - Regular, com direito a crédito; R - Reprovado; T - Transferência.</p> <p>Um(1) crédito equivale a 15 horas de atividade programada.</p>
--

Última ocorrência: Matrícula de Acompanhamento em 10/02/2011
Impresso em: 10/05/11 11:29:09



UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

Faculdade de Ciências Farmacêuticas
Secretaria de Pós-Graduação

**Informações para os Membros de Bancas Julgadoras de
Mestrado/Doutorado**

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

São Paulo, 26 de maio de 2011.

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