

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
FACULDADE DE NUTRIÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NUTRIÇÃO E ALIMENTOS



DISSERTAÇÃO

**ASSOCIAÇÕES DA ATIVIDADE SÉRICA DA PARAOXONASE 1 E SEU
POLIMORFISMO C(-107)T COM O CONSUMO ALIMENTAR EM MULHERES PRÉ
E PÓS-MENOPAUSA ATENDIDAS EM SERVIÇO DE NUTRIÇÃO**

MAUREN DE CASTRO RITTA

PELOTAS

AGOSTO/ 2017

MAUREN DE CASTRO RITTA

**ASSOCIAÇÕES DA ATIVIDADE SÉRICA DA PARAOXONASE 1 E SEU
POLIMORFISMO C(-107)T COM O CONSUMO ALIMENTAR EM MULHERES PRÉ
E PÓS-MENOPAUSA ATENDIDAS EM SERVIÇO DE NUTRIÇÃO**

Dissertação de apresentada ao Programa Pós Graduação em Nutrição em Alimentos da Faculdade de Nutrição da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Nutrição e Alimentos.

Orientador: Prof. Dr. Augusto Schneider

Co-orientadora: Profa. Dra. Isabel Oliveira de Oliveira

PELOTAS

AGOSTO/2017

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas Catalogação na
Publicação

R613a Ritta, Mauren de Castro

Associações da atividade sérica da paraoxonase 1 e seu polimorfismo C(-107)T com o consumo alimentar em mulheres pré e pós-menopausa atendidas em serviço de nutrição/Mauren de Castro Ritta; Augusto Schneider, orientador; Isabel Oliveira de Oliveira, Carlos Castilhos Barros, coorientadores. — Pelotas, 2017.

61 f. : il.

Dissertação (Mestrado) — Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Alimentos, Faculdade de Nutrição, Universidade Federal de Pelotas, 2017.

1. Paraoxonase 1. 2. Menopausa. 3. Doença cardiovascular. I. Schneider, Augusto, orient. II. Oliveira, Isabel Oliveira de, coorient. III. Barros, Carlos Castilhos, coorient. IV. Título.

CDD : 641.1

MAUREN DE CASTRO RITTA

**ASSOCIAÇÕES DA ATIVIDADE SÉRICA DA PARAOXONASE 1 E SEU
POLIMORFISMO C(-107)T COM O CONSUMO ALIMENTAR EM MULHERES PRÉ
E PÓS-MENOPAUSA ATENDIDAS EM SERVIÇO DE NUTRIÇÃO**

Dissertação aprovada, como requisito parcial, para obtenção do grau de Mestre em Nutrição e Alimentos, Programa de Pós-Graduação em Nutrição em Alimentos, Faculdade Nutrição, Universidade Federal de Pelotas.

Data da Defesa: 04/08/2017

Banca examinadora:

Dr. Augusto Schneider (Orientador)

Dra. Silvana Paiva Orlandi

Dra. Simone Pieniz

**Dedico este trabalho aos
meus pais, marido e filho.**

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, à Deus e aos orixás por estarem sempre iluminando e guiando meus caminhos, permitindo que eu possa ir em busca dos meus objetivos.

À Universidade Federal de Pelotas, pela oportunidade de aprimorar meus conhecimentos contribuindo para a minha trajetória e aperfeiçoamento profissional, também aos docentes do programa de pós-graduação.

À gestão da Secretaria Municipal da Saúde e Coordenação da ESF do município do Rio Grande – RS as quais permitiram a realização do mestrado como forma de aperfeiçoamento profissional.

Ao orientador, Prof. Augusto Schneider, por ter me proporcionado o aprendizado no campo da genética e por todo conhecimento compartilhado. E, ainda, pelo comprometimento com sua função, saiba que seu suporte foi de suma importância, inclusive, ao compreender minhas angústias e faltas devido a minha atividade profissional concomitante ao curso do mestrado.

À co-orientadora, Prof. Isabel Oliveira, pelo auxílio e dedicação. À banca de qualificação, Prof. Carlos Barros e Prof. Renata Abib, pelas sugestões e considerações, pois foram de grande utilidade. E, também, as Prof. Sandra Valle e Prof. Juliana Vaz pelos esclarecimentos.

À amiga e colega Aline Baldez pela dedicação, esforço e compreensão, pois juntas percorremos essa jornada, dividindo momentos de estudos, angústias e experiências, bem como, aos demais colegas de curso pelo apoio.

Às colegas Driele e Paola que auxiliaram nas análises laboratoriais e na digitação dos dados.

Aos meus avós João e Jurema e tia avó Julieta (*in memoriam*), por sempre estimularem e incentivarem minha busca pelo aprendizado e conhecimento, mesmo hoje não tendo mais a presença física sei que continuam torcendo pela minha realização pessoal e profissional.

Aos meus pais Roberto (*in memoriam*) e Eva pelo amor, companheirismo e apoio incondicional, pois foram sempre atuantes com palavras de força e ajuda para eu seguir em frente e realizar meus sonhos.

Ao meu marido, Rodrigo, companheiro leal, que por meio da sua compreensão, incentivo e dedicação com nosso filho, me ajudou a realizar este curso.

Ao meu filho, Vitor Samuel, pela oportunidade de estar vivendo a mais pura forma de amor, pois chegaste em meio a esta jornada para provar que nada é por acaso e que tudo é possível.

À minha irmã Claudia, que de forma especial e carinhosa me deu força e apoio nos momentos de dificuldades, e, também, contribui com seus conhecimentos e à minha sobrinha Isabelle pela alegria contagiante que transmite diariamente.

Aos familiares, em especial, Jéssica, Nadiane e Paola que auxiliaram nos cuidados com meu filho para que ele pudesse me acompanhar nos dias de aula.

Aos amigos especiais que incentivaram o ingresso no programa Alice Kieling, Ângela Gonçalves, Cynthia Leal, Daniel Soares, Eliana Bender, Fernanda Silveira, Giovanna Anderson, Larissa Matos, Lucimara Marques, Maria de Lourdes Matos, Mauara Rezende e Tânia Vigorito.

Aos colegas da equipe NASF e da Policlínica Rio Grande que de alguma forma contribuíram nesta jornada entendendo minhas ausências.

Às equipes de UBSF's que auxiliaram na coleta de dados, bem como a comunidade que aceitou participar da pesquisa.

À banca, as Prof.^a Silvana Orlandi e Simone Pieniz, por ter aceitado fazer parte deste momento tão especial.

À todos que, direta e indiretamente, colaboraram para que este trabalho se concretizasse.

“Todos os nossos sonhos podem se tornar realidade
– se tivermos a coragem de segui-los.”

(GARRISON, 1988,p. 7)

Resumo

RITTA, Mauren de Castro. **Associações da atividade sérica da paraoxonase 1 e seu polimorfismo C(-107)T com o consumo alimentar em mulheres pré e pós-menopausa atendidas em serviço de nutrição.** 2017. 61f. Dissertação (Mestrado em Nutrição e Alimentos) – Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Alimentos, Faculdade de Nutrição, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2017.

As doenças crônicas não transmissíveis (DCNT) representam a principal causa de morte no mundo. No Brasil, assim como em outros países, as doenças cardiovasculares (DCV's) representam um terço dos óbitos em adultos. Em estudo que investigou a prevalência de DCV foi demonstrada que esta se apresentava igual entre os sexos quando as mulheres estavam no período pós-menopausa. A deficiência de estrógeno decorrente desse período está associada a alterações no perfil lipídico, distribuição e composição corporal, que levam a uma modificação oxidativa importante na etiologia da aterosclerose, pois a ação da lipoproteína de alta densidade (HDL-c) estará diminuída. A paraoxonase 1 (PON1) circula ligada ao HDL-c sendo a responsável pela ação ateroprotetora. O gene que codifica a *PON1* tem diversos polimorfismos de nucleotídeo único (SNP do inglês, *single nucleotide polymorphism*), sendo aquele localizado na região promotora C(-107)T o que exerce efeito sobre a atividade sérica e expressão gênica. A atividade da PON1 sofre influências genéticas, ambientais e fisiológicas que estimulam ou inibem sua ação e expressão. A dieta atua tanto na prevenção de DCV assim como na atividade da PON1. Diante deste contexto, em que diversos fatores contribuem para o risco de DCV's e de poucos relatos científicos relacionando menopausa, dieta, genótipo e atividade da PON1, percebe-se a necessidade de ampliar os conhecimentos sobre a prevenção de comorbidades associadas a esta fase da vida da mulher. Este estudo foi proposto com o objetivo de relacionar o nível de atividade da PON1 no soro de mulheres em períodos pré e pós-menopausa com a presença do polimorfismo C(-107)T do gene da PON1 e consumo alimentar, visando identificar fatores de risco para DCV. Foi realizado um estudo transversal com 91 mulheres entre 20 e 59 anos, atendidas em serviço de nutrição, divididas em dois grupos, sendo 55 na pré-menopausa e 36 na pós-menopausa. Das participantes foram coletados dados antropométricos,

amostra de sangue, aplicado questionário de frequência alimentar (QFA) e questionário geral sobre condições de saúde e hábitos de vida. Foi observada diferença significativa na população com o genótipo TT em relação à baixa atividade da PON1, predomínio de excesso de peso em ambos os grupos, perfil lipídico e glicêmico alterado com diferença significativa para o nível de colesterol total e glicemia de jejum, sendo evidenciada uma tendência ao aumento da lipoproteína de baixa densidade (LDL-c) e hemoglobina glicada (HbA1C) e diminuição no consumo de calorias e carboidratos nas pós-menopausa. A atividade da PON1 não apresentou interação com a menopausa, consumo de lipídios, alimentos processados e *in natura*. Concluindo estes resultados reforçam a importância de intervenções preventivas e promotoras de estilo de vida saudável, afim de contribuir para o controle de fatores de risco modificáveis, visto que população apresenta uma predisposição para o desenvolvimento de DCV.

Palavras-chaves: Paraoxonase1, Menopausa, Doença Cardiovascular

Abstract

RITTA, Mauren de Castro. **Associations of paraoxonase 1 serum activity and its C (-107) T polymorphism with food consumption in pre and postmenopausal women in a nutritional assistance service.** 2017. 61f. Dissertation (Master in Nutrition and Food) - Graduate Program in Nutrition and Food, Faculty of Nutrition, Federal University of Pelotas, Pelotas, 2017.

Non-communicable chronic diseases (NCDs) are the leading cause of death in the world. In Brazil, as in other countries, cardiovascular diseases (CVDs) account for a third of deaths in adults. In a study investigating the prevalence of CVD, the same prevalence was found between sexes when the women were in the postmenopausal period. The estrogen deficiency during this period is associated with alterations in lipid profile, distribution of body fat and body composition. These changes lead to oxidative modifications, important in the etiology of atherosclerosis, since the action of high density lipoprotein (HDL-c) will be reduced. Paraoxonase 1 (PON1) circulates along HDL-c and is responsible for the atheroprotective action. The gene encoding PON1 has several single nucleotide polymorphisms (SNPs), and the one located in the C (-107) T promoter region has an effect on PON1 serum activity and gene expression. The activity of PON1 undergoes genetic, environmental and physiological influences that stimulate or inhibit its action and expression. The diet works both in the prevention of CVD as well as in the activity of PON1. In this context, several factors contribute to the risk of CVDs and there are few scientific reports associating menopause, diet, genotype and PON1 activity, it is necessary to increase the knowledge about the prevention of comorbidities associated with this stage of life of the woman. The aim of this study was to correlate the level of PON1 activity in the serum of pre and post menopausal women with the presence of the C (-107) T polymorphism of the PON1 gene and food consumption, aiming to identify risk factors for CVD. A cross-sectional study was carried out with 91 women between 20 and 59 years of age, that attended at a nutrition service, divided into two groups: 55 premenopausal women and 36 postmenopausal women. Anthropometric data was collected from the patients, as well as blood sample, a food frequency questionnaire (FFQ) and general questionnaire on health conditions and life habits were applied. A significant difference was observed in the population with the TT genotype, having lower PON1 activity, predominance of overweight in both groups, altered lipid and glycemic profile with significant difference for total cholesterol and fasting glycemia levels. A tendency to increase low-density lipoprotein (LDL-c) and glycated hemoglobin (HbA1C) and decrease post-menopausal calorie and carbohydrate intake was observed. The activity of PON1 did not show interaction with menopause, lipid consumption, and

ingestion of processed foods or in natura. Concluding these results reinforce the importance of preventive and healthy lifestyle interventions in order to contribute to the control of modifiable risk factors, since the population presents a predisposition for the development of CVD.

Keywords: Paraoxanase1, Menopause, Cardiovascular Disease

Lista de Figuras

Figura 1	Eletroforese dos genótipos do polimorfismo PON1 C (-107)T...	23
Figura 2	Atividade da PON1 em mulheres pré e pós-menopausa acordo com o genótipo do polimorfismo PON1 C (-107)T.....	24
Figura 3	Associação da atividade da PON1 e do nível de colesterol sérico com o consumo de lipídios em mulheres pré e pós-menopausa.....	25
Figura 4	Figura 4- Associação da atividade da PON 1 e o consumo de alimentos processados e in natura em mulheres pré e pós-menopausa.....	26

Lista de Tabelas

Tabela 1	Dados das características gerais das mulheres pré e pós-menopausa.....	22
Tabela 2	Distribuição dos genótipos e frequência relativa de alelos para o polimorfismo C(-107)T do gene da PON1 em mulheres pré e pós-menopausa.....	23
Tabela 3	Atividade da PON1, perfil lipídico e glicêmico em mulheres pré e pós-menopausa.....	24
Tabela 4	Distribuição por média do consumo diário de calorias, macronutrientes, colesterol e fibras em mulheres pré e pós-menopausa.....	25

Lista de Abreviaturas e Siglas

Apo A- I	Apolipoproteína A
CEP	Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Pelotas
CT	Colesterol total
DCNT	Doença crônica não transmissível
DCV	Doença cardiovascular
HbA1C	Hemoglobina glicada
HDL-c	Lipoproteína de alta densidade
IMC	Índice de massa corporal
LDL-c	Lipoproteína de baixa densidade
PON1	Paraoxonase-1
PON2	Paraoxonase-2
PON3	Paraoxonase-3
QFA	Questionário de frequência alimentar
SNP	Single Nucleotide Polymorphism
TCLE	Termo de consentimento livre e esclarecido
UBSF's	Unidades Básicas de Saúde da Família
UFPeI	Universidade Federal de Pelotas
VLDL	Lipoproteína de muito baixa densidade

SUMÁRIO

1. Introdução.....	13
2. Objetivos.....	17
3. Metodologia.....	18
4. Resultados.....	22
5. Discussão.....	27
6. Conclusão.....	30
7. Referências.....	31
8. Anexos.....	40

1. INTRODUÇÃO

As doenças crônicas não transmissíveis (DCNT) representam a principal causa de morte no mundo e, no Brasil, correspondem a 72%, sendo as camadas mais pobres e vulneráveis as mais atingidas (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2011). Estudos têm mostrado que as doenças cardiovasculares (DCV's) são responsáveis por um terço dos óbitos em adultos em diferentes países e essa mesma taxa de mortalidade é encontrada no Brasil (OMS, 2011). A maioria das DCV pode ser prevenida por meio de controle dos fatores de riscos como: dieta, fumo, álcool, excesso de peso, sedentarismo, hipertensão, diabetes mellitus e dislipidemias (SBC, 2013).

Em relação à idade e ao sexo, o estudo de *Framingham* (KANDEL et al., 1976) demonstrou uma elevação na incidência da DCV com a idade, a qual é relacionada ao sexo masculino. Nas mulheres após a menopausa, a ocorrência de DCV foi encontrada na mesma prevalência que em homens, sugerindo que a ação hormonal pré-menopausa confere proteção contra DCV ao sexo feminino (GUO et al., 1999).

A menopausa, ausência de ciclo menstrual após 12 meses e que ocorre em torno dos 48 aos 50 anos, é definida como um marco no período de transição da fase reprodutiva para a fase não reprodutiva. Nesse período, que está compreendido entre 35 e 65 anos, os ovários têm sua produção estrogênica reduzida e insuficiente para garantir a reprodução e a manutenção das características funcionais dos órgãos sexuais femininos (BRASIL, 2008). A deficiência de estrogênios decorrente do processo fisiológico de envelhecimento da mulher leva a modificações no perfil lipídico, aumentando o nível de colesterol total e lipoproteína de baixa densidade (LDL-c), bem como, alterações na distribuição e composição corporal (FERIN et al., 1993; SAMANTA, 1998; IGNACIO et al., 2009; KEMMLER et al., 2010).

Nas dislipidemias, que correspondem a alterações do perfil lipídico, é evidente o aumento das concentrações plasmáticas da lipoproteína de muito baixa densidade (VLDL) e da lipoproteína de baixa densidade (LDL-c), acompanhado da diminuição da concentração plasmática da lipoproteína de alta densidade (HDL-c). Essas alterações levam a uma modificação oxidativa que exerce importante papel na etiologia da aterosclerose (FUJISAWA et al., 2008; LIMA et al., 2006; PUK, 2007), pois a ação antioxidante do HDL-c estará diminuída. A inibição da formação do LDL-c oxidado por

meio da hidrólise enzimática dos hidroperóxidos dos fosfolipídios é decorrente da ação antioxidante do HDL-c (MOHAMMADI, 2012; COSTA et al., 2005).

A paraoxonase 1 (PON1) é uma esterase cálcio dependente, sintetizada no fígado e secretada na corrente sanguínea, que circula no plasma associada exclusivamente à HDL-c (DANTOINE et al., 2003; DRAGANOV; LA DU, 2004). O nome da enzima foi originado da capacidade de utilização do substrato paraoxon, mas a enzima também é capaz de hidrolisar acetato de fenila (ação arilesterase), ácidos carboxílicos aromáticos, lactonas, peróxidos lipídicos (hidroperóxido de linoleato de colesterol e hidroperóxido de fosfatidilcolina) e estatinas (WATSON et al., 1995; MACKNESS et al., 1996; NAVAB et al., 1997; AVIRAM et al., 1998; AVIRAM et al., 2000; TOMAS et al., 2004). A paraoxonase é codificada a partir de uma família multigênica composta por três genes *PON1*, *PON2*, *PON3*, localizada no cromossomo 7q21.3.

A PON1 é a proteína mais estudada presente na apoA-I, integrante do HDL-c (CAMPS, 2009). Por possuir atividade antioxidante, que previne as partículas de LDL-c de sofrerem modificação oxidativa, confere uma ação ateroprotetora ao HDL-c. Diferentes estudos têm evidenciado uma influência genética sobre a atividade da enzima, que ao ser reduzida, apresenta-se relacionada ao aumento do estresse oxidativo e do risco de DCV (DURRINGTON, MACKNESS et al., 2001; BHATTACHARYYA , NICHOLLS et al., 2008-2009).

Existem mais de 160 polimorfismos de nucleotídeo único (SNP do inglês, *single nucleotide polymorphism*) relacionados à *PON1*. Os polimorfismos mais estudados estão localizados na região codificadora do gene, o L55M e o Q192R, e são responsáveis pela alteração da estabilidade da enzima e pela origem da aloenzima substrato-dependente, respectivamente (COSTA et al., 2005). Outro importante polimorfismo está localizado na região promotora C(-107)T (rs705379), e exerce efeito significativo sobre a atividade sérica e expressão gênica (SUEHIRO, 2000) pois atua em um local de transcrição (DEAKIN et al., 2003; SCHRADER; RIMBACH, 2011) A presença do alelo (-107)C resulta em concentração de PON1 até duas vezes superior àquela observada na presença do alelo T (BROPHY , et al., 2001; DEAKIN , et al.,2003; HUEN , et al., 2010; KIM et al., 2013; SANTOS et al., 2016).

A atividade da PON1 sofre influência de diversos fatores e estes podem atuar estimulando ou inibindo sua ação ou expressão. Em relação à idade, no recém-nascido a atividade é baixa e aumenta entre 15-25 meses de vida (HOLLAND et al., 2006; MARCHEGANI et al., 2008) quando atinge o nível de concentração enzimática determinado pelo polimorfismo da região 5' e pelos fatores ambientais como dieta, estilo de vida, substâncias químicas e patologias (COSTA et al., 2005; GOSWAMI et al., 2009). Foi observada a diminuição dos níveis da PON com o envelhecimento, sugerindo uma relação com o aumento do estresse oxidativo que ocorre com a idade (SERES et al., 2004; LESCAI et al., 2009). Nas mulheres o nível de atividade da PON1 é maior (FAGGIONI, 2003; COSTA et al., 2005; SUMEGOVA et al., 2006), sendo a diferença observada entre os sexos justificada pelos esteróides sexuais (COSTA et al., 2005; RIOS et al., 2007). Também foi observada uma variabilidade de 10 a 40 vezes quando comparados indivíduos de diferentes etnias (CATAÑO et al., 2006; ELKIRAN et al., 2007; ENG et al., 2009; EOM et al., 2011). Na literatura há relatos de que a atividade da PON1 sofre alterações em decorrência a doenças que envolvam estresse oxidativo, como doença cardiovascular (MACKNESS et al., 2004; GUPTA et al., 2011), diabetes mellitus (IBORRA et al., 2006; FLEKAC et al., 2008) e câncer (STEVENS et al., 2006; ELKIRAN et al., 2007; CAMUZCUOGLU et al., 2009). Mesmo em indivíduos saudáveis a enzima pode estar alterada (FERREIRA, 2007; PARRA et al., 2010, SINGH et al., 2011), podendo estar relacionada ao tabagismo, gestação, menopausa e dietas aterogênicas (FAGGIONI, 2003; HOLLAND et al., 2006; PRAKASH et al., 2007; TSAKARIS et al., 2009).

A dieta, por sua vez, exerce um importante papel na prevenção da DCV, como observada em estudos que avaliam a relação entre a causalidade de DCNT e o consumo alimentar de excesso de ácidos graxos saturados e colesterol (WILLETT et al., 1998). A atividade da PON1 também é modificada pela dieta, como visto em estudos que associam o consumo de colesterol e ácidos graxos com a atividade da PON1 (KIM et al., 2012; KIM et al., 2013). Em estudo realizado com mulheres no sul do Brasil foi observado que a dieta rica em ácidos graxos saturados, ômega 3 e pobre em ômega 6, resultou em uma baixa atividade da PON1 em mulheres de genótipo PON1-107(TT) (SANTOS et al., 2016). Da mesma forma, em um estudo realizado com mulheres na Finlândia, foi evidenciado que a dieta rica em vegetais reduziu a atividade da PON1 (RANTALA et al., 2002). Há relatos de que as alterações da

atividade da enzima ocorrem conforme os hábitos alimentares, além de ter sido observada a importância dos flavonóides como estimuladores da atividade PON1 (CAMPS et al., 2009).

Diante do contexto e dos pressupostos apresentados percebe-se que fatores ambientais e genéticos contribuem para o risco de DCV. Entretanto, há poucos relatos científicos sobre a associação entre menopausa, dieta, genótipo e atividade da PON1, objeto do presente estudo. Sendo assim, esse conhecimento permitirá que estratégias de intervenção mais adequadas possam ser implementadas, com vistas a prevenir as comorbidades associadas a esta fase da vida, visto o aumento da expectativa de vida na população (FUNDAÇÃO IBGE, 2001) e, o aumento da população feminina na pós-menopausa.

2-OBJETIVOS

2.1-Objetivo Geral

O objetivo deste estudo foi relacionar o nível de atividade da PON1 no soro de mulheres em períodos pré e pós-menopausa com a presença do polimorfismo C(-107)T do gene da PON1 e consumo alimentar, visando identificar fatores de risco para DCV.

2.2-Objetivos Específicos

- Caracterizar a população estudada no que diz respeito a:

a) estado nutricional;

b) consumo de lipídios, alimentos processados e *in natura*;

c) atividade arilesterase da PON-1;

d) frequência do polimorfismo genético C(-107)T;

e) perfil lipídico e glicêmico;

f) efeito da menopausa sobre os parâmetros acima citados.

- Descrever as associações entre a atividade da PON1, o polimorfismo genético PON1 C(-107)T, perfil lipídico e glicêmico, estado nutricional e ingestão de lipídios, alimentos processados e *in natura* na pré e pós-menopausa.

3- METOLOGIA

3.1-Aspectos éticos

O estudo foi submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Pelotas (CEP) e aprovado em 19/10/2016 sob o número do parecer: 1.708.582. Todas as participantes foram informadas do objetivo da pesquisa, bem como dos procedimentos metodológicos, e assinaram o termo de consentimento livre esclarecido (TCLE) (Anexo A).

3.2-Delineamento e População

Foi realizado um estudo transversal, com pacientes com idade entre 20 e 59 anos, atendidas nas Unidades Básicas de Saúde da Família (UBSF's) da cidade de Rio Grande-RS no período de novembro de 2016 a maio de 2017.

3.3-Amostra

A amostra foi composta por 103 mulheres a partir de 20 anos de idade, que consultaram nas UBSF's da cidade de Rio Grande-RS e atenderam aos critérios de inclusão no período da coleta de dados.

O cálculo do tamanho da amostra partiu da revisão de literatura e foi realizado no programa aberto online de estatísticas epidemiológicas OpenEpi - Open Source Epidemiologic Statistics for Public Health, versão 3.01. Considerou-se um nível de confiança de 95% e o cálculo amostral foi realizado para os níveis de paraoxonase, conforme dados encontrados na literatura, por diferença de média entre os grupos. Além disso, foram acrescentados 10% para eventuais perdas e recusas e 15% para controlar fatores de confusão. Desta forma, para obtenção de poder amostral de 80% foi estimada a necessidade de aproximadamente 100 participantes (pré e pós-menopausa).

3.4-Critérios de inclusão e exclusão

Participaram do estudo 91 mulheres aparentemente saudáveis, independente do estado nutricional, as quais assinaram o TCLE. Foram incluídas no estudo mulheres entre 20 e 59 anos de idade que foram divididas em dois grupos: grupo 55

pré-menopausa e grupo 36 pós-menopausa (sem ciclos menstruais regulares nos últimos 12 meses).

Foram excluídas do estudo mulheres que faziam uso de algum medicamento que comprometia a função vascular e o eixo hipotalâmico-pituitário-gonadal, gestantes, nutrízes e mulheres com menopausa precoce (menos de 45 anos), tardia (mais de 55 anos) ou decorrente de procedimento cirúrgico (SOYMAN et al., 2011).

3.5-Variáveis de desfecho: Atividade da PON1

A PON1 foi avaliada pela medida da atividade arilesterase, a qual tem mostrado precisão na representação da atividade da PON1. A atividade arilesterase foi medida a partir da velocidade de formação de fenol por meio da monitorização do aumento da absorvância 270 nm a 25°C. O reagente de trabalho consistiu em Tris/HCl 20 mM, pH 8,0, contendo 1 mM de CaCl₂ e 4 mM de fenilacetato como substrato. As amostras diluídas 1:3 em tampão foram adicionadas e a mudança na absorvância foi registrada durante 60 seg. Uma unidade de atividade arilesterase foi considerada igual a 1 mM de fenol formado por minuto. A atividade é expressa em kU/L ou U/mL, com base no coeficiente de extinção do fenol. As amostras em branco contendo água foram usadas para corrigir a hidrólise não enzimática (BROWNE et al., 2007).

3.6-Variáveis de exposição: perfil de consumo alimentar, índice de massa corporal (IMC), perfil lipídico e glicêmico, polimorfismo C(-107)T da PON1 e idade.

A coleta de sangue foi feita em um momento posterior a entrevista, onde as participantes foram agendadas nas UBSF's. Foram coletados cerca de 5 mL de sangue de cada paciente por punção venosa, após jejum de 12 horas, em frascos secos para as dosagens bioquímicas. As amostras de sangue foram encaminhadas aos laboratórios de apoio para análise em equipamento automatizado. O colesterol total (CT), o colesterol de alta densidade (HDL-c), o colesterol de baixa densidade (LDL-c), triglicerídeos e glicemia de jejum foram determinados por método enzimático automatizado. A hemoglobina glicada (HbA1C) foi determinada pelo método de imunoturbidimetria, seguindo as instruções do fabricante. A análise do perfil lipídico seguiu os valores de referência propostos pela Sociedade Brasileira de Cardiologia (SBC, 2013) (Anexo B). A análise de glicemia e hemoglobina glicada, foi baseada nos

valores de referência propostos pelas Diretrizes da Sociedade Brasileira Diabetes (MILECH et al., 2016) (Anexo C). Uma alíquota de soro foi encaminhada ao laboratório da Faculdade de Nutrição/UFPel para análise da atividade de PON1, conforme descrito anteriormente.

Para extração do DNA genômico foram utilizadas amostras de sangue extraídas nas UBF's e armazenadas sob refrigeração no laboratório da Faculdade de Nutrição, seguindo o protocolo para extração de DNA estabelecido como procedimento padrão no mesmo laboratório (Anexo D).

A determinação do genótipo PON1 T (-107) C foi obtida por PCR, seguido por digestão enzimática (técnica de PCR-RFLP, polimerase chain reaction – restriction fragment length polymorphism) (HUMBERT et al, 1993). Para a amplificação da região codificante do gene da PON1, onde está localizado o polimorfismo T(-107)C, utilizado 10 µl de GOTaq®, 1µl do primer forward 5'AGCTAGCTGCGGACCCGGCGGGGAGGaG3' e reverse 5'GGCTGCAGCCCTCACCACAACCC3'. Foram utilizadas as condições padrão para realização da reação de PCR, com temperatura de anelamento de 67°C. A letra minúscula no *primer forward* indica um erro de pareamento que introduz um sítio de restrição para a enzima *BsrBI* (New EnglandBioLabs, Cambridge, UK), pois não há sítio de restrição específico cortando a sequência original do DNA. Após a digestão, o alelo C foi identificado pelos fragmentos de 28 e 212pb, enquanto o alelo T resultou no fragmento 240 pb não digerido. Os fragmentos de DNA foram separados por eletroforese em gel de agarose de 3%, corados com SYBR Safe (Applied Biosystems).

3.7-Coleta de dados

Foi realizada pelos pesquisadores de acordo com a logística expressa no fluxograma (Anexo E).

3.8-Instrumentos

3.8.1-Avaliação do estado nutricional

A massa corporal foi avaliada por meio da determinação da massa corporal (quilogramas) e estatura (centímetros) em balança mecânica Welmy®, com

capacidade de pesagem de 150 kg, com divisões a cada 100gr e pesagem mínima de 2 kg devidamente aferida pelo INMETRO. O índice de massa corporal (IMC) de cada participante foi obtido pela equação massa corporal (kg) dividida pela estatura ao quadrado (m) e interpretado conforme classificação da Organização Mundial da Saúde (OMS, 1995) (Anexo F).

3.8.2-Consumo alimentar

O consumo alimentar foi avaliado pelo questionário de frequência alimentar (QFA), o qual se encontra no Anexo G e segue os padrões descritos previamente por Lopes et al. (2009) e Sichieri e Everhart (1998). Com objetivo de orientar as respostas, foi disponibilizado um cartão-resposta (Anexo H). Os alimentos foram classificados como processados e *in natura* (Anexo I), de acordo com o proposto no novo Guia Alimentar para a População Brasileira (BRASIL, 2014). Para cada alimento consumido foi estabelecido um escore com base na frequência semanal de consumo e a partir deste escore as medianas de consumo estabelecidas para cada categoria. Além disso, baseado na composição dos alimentos foi estabelecido o consumo de calorias, proteínas, carboidratos, lipídeos e fibras.

3.8.3- Condições de saúde

O questionário geral para a avaliação de condições de saúde e hábitos de vida elaborado pelos pesquisadores (Anexo J).

3.9-Processamento e análise de dados

Os dados coletados foram digitados em planilha eletrônica (Excel®), após foram transferidos e analisados no programa SAS University Edition (SAS). Comparações entre as categorias pré e pós-menopausa foram feitas através do MIXED procedure, com teste post-hoc de Tukey, usando como co-variável o IMC. Interações da alimentação com a menopausa foram testadas também através do MIXED procedure, testando o efeito da alimentação, menopausa e sua interação. Quando a interação foi significativa, o teste post-hoc de Tukey foi aplicado para determinar o nível de significância. O nível de significância adotado foi de 5% ($p \leq 0,05$).

4-RESULTADOS

As características gerais da população estudada como idade, uso de contraceptivo, cor da pele, tabagismo e estado nutricional estão apresentadas na Tabela 1.

Tabela 1-Dados de características gerais das mulheres pré e pós menopausa. (n = 91)

	Pré n(%)	Pós n(%)	P
Amostra	55 (60,4)	36 (39,6)	
Idade *	38,7 ± 1,1	53,5 ±0,6	0,110
Idade menarca*	12,1 ±0,2	12,6 ±0,2	
Idade menopausa*	-	46,5 ±0,7	
Contraceptivo ¹			
Sim	21 (41,2)	-	
Não	30 (58,8)	-	
Escolaridade			
Nenhum/Fundamental incompleto	16 (30,3)	16 (44,5)	
Fundamental completo/Médio incompleto	04 (7,5)	03 (8,3)	
Médio completo/Superior incompleto	29 (54,7)	17 (47,2)	
Superior completo	04 (7,5)	0 (0)	
Cor da pele			
Branca	42 (76,4)	31 (86,1)	
Não Branca	10 (18,2)	04 (11,1)	
Ñ declarada	03 (5,4)	01 (2,8)	
Tabagismo ^{2,3}			
Sim	02 (4,0)	08 (22,8)	
Não	41 (82,0)	24 (68,6)	
Já fez uso	07 (14,0)	03 (8,6)	
IMC kg/m ² * ⁴	32,8 ±1,0	32 ±1,6	0,651
Baixo peso	0 (0)	01 (2,8)	
Adequado	09 (17,3)	09 (25,0)	
Sobrepeso	11 (21,1)	06 (16,7)	
Obesidade grau I	14 (27,0)	09 (25,0)	
Obesidade grau II	09 (17,3)	04 (11,1)	
Obesidade grau III	09 (17,3)	07 (19,4)	
Sem morbidades	22 (40)	05 (13,8)	
Com morbidades ⁵	33 (60)	31 (86,2)	
Hipertensão Arterial Sistêmica	19 (57,8)	20 (64,5)	
Diabetes Mellitus	02 (6,1)	05 (16,1)	
Dislipidemias	03 (9,1)	11 (35,5)	

*Os valores estão expressos como média, ± erro padrão da média

¹ com base na resposta de 51 mulheres.

² com base na resposta de 50 mulheres pré- menopausa.

³ com base na resposta de 35 mulheres pós-menopausa.

⁴ com base na coleta de dados antropométricos de 52 e 36 mulheres pré e pós-menopausa, respectivamente.

⁵ considerando as mulheres que apresentaram mais de uma morbidade.

Na Figura 1 pode ser observada a identificação dos genótipos do polimorfismo C(-107)T realizada pela análise dos produtos de restrição com enzima *BrsBI*. O genótipo CC foi caracterizado pela presença dos fragmentos de 212 e 28 pb; a presença dos fragmentos de 240 pb indica o genótipo TT e os fragmentos de 28, 212 e 240 caracterizam o genótipo CT.

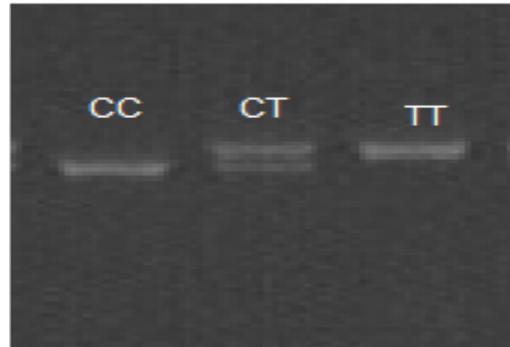


Figura 1 – Eletroforese dos genótipos do polimorfismo C(-107)T representativa de 3 amostras sendo uma de cada genótipo encontrado no estudo.

Os genótipos e a frequência relativa dos alelos do polimorfismo C(-107)T nos indivíduos da amostra estão apresentados na Tabela 2, onde pode ser observada a predominância do genótipo CT.

Tabela 2- Distribuição dos genótipos e frequência relativa de alelos para o polimorfismo C(-107)T do gene da PON1 em mulheres pré e pós menopausa.

	Distribuição	Pré (n=38)	Pós (n=24)
Genótipo ¹			
CC	16(25,8)	08 (21,1)	08 (33,4)
TT	18(29,0)	13 (34,2)	05 (20,8)
CT	28(45,2)	17 (44,7)	11 (45,8)
Alelo ¹			
C	60(48,4)	33 (43,4)	27 (56,2)
T	64(51,6)	43 (56,6)	21 (43,8)

¹ com base na genotipagem de 62 mulheres.

A atividade da PON1 sérica para os grupos pré e pós-menopausa de acordo com o polimorfismo PON1 C(-107)T esta apresentada na figura 2 e nota-se que no genótipo TT teve menor atividade em ambos os grupos.

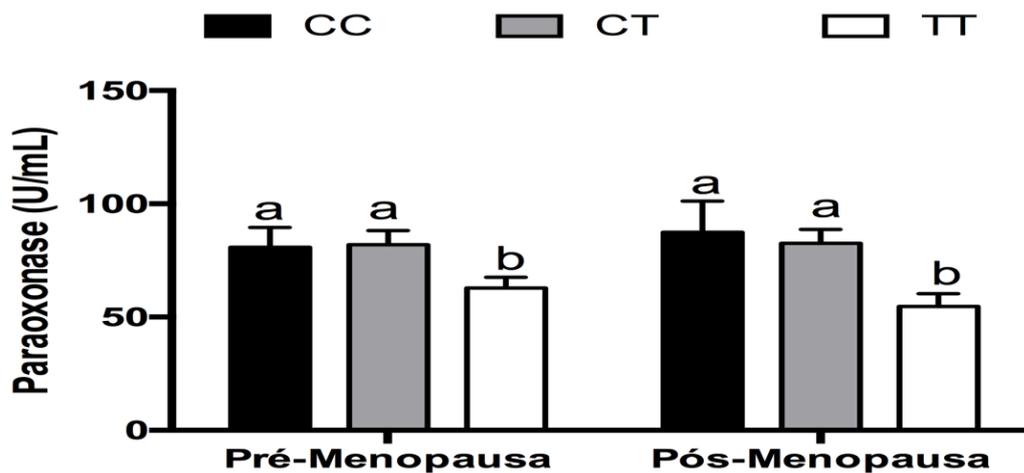


Figura 2 -Atividade da PON 1 em mulheres pré e pós-menopausa acordo com o genótipo do polimorfismo PON1 C (-107)T.

Os resultados da atividade da PON1 e do perfil lipídico e glicêmico das participantes estão expressos na Tabela 3, por meio dos resultados observa-se que houve diferença significativa para média de colesterol total e glicemia de jejum.

Tabela 3- Atividade da PON1, perfil lipídico e glicêmico em mulheres pré e pós-menopausa.

	Pré (n=55)	Pós (n=36)	P
Atividade da PON1 ¹	77,3 ±3,2	78,7 ±4,6	0,802
Colesterol total ²	182,7 ±4,6	208,4 ±7,6	0,006
HDL-c ²	49,1 ±1,7	54,0 ±2,2	0,085
LDL-c ²	108,3 ±3,7	128,8 ±6,2	0,055
Triglicerídeos ²	136,8 ±10,4	155,5 ±14,7	0,311
Glicemia de jejum ²	85,8 ±2,1	105,1 ±8,2	0,029
HbA1c ³	5,4 ±0,1	6,3 ±0,1	0,067

Os valores estão expressos como média, ±erro padrão da média.

¹U/ml.

² mg/dl.

³%.

Na figura 3 é apresentada a atividade da PON1 e o nível de colesterol sérico em relação ao consumo de lipídios na população estudada, foi utilizada como base a mediana do percentual de consumo de lipídios em relação ao valor calórico total (VCT) e nota-se que não houve efeito do consumo de lipídios sobre a PON1 e colesterol ($p > 0,05$) e não houve interação entre a menopausa e o consumo de lipídios ($p > 0,05$).

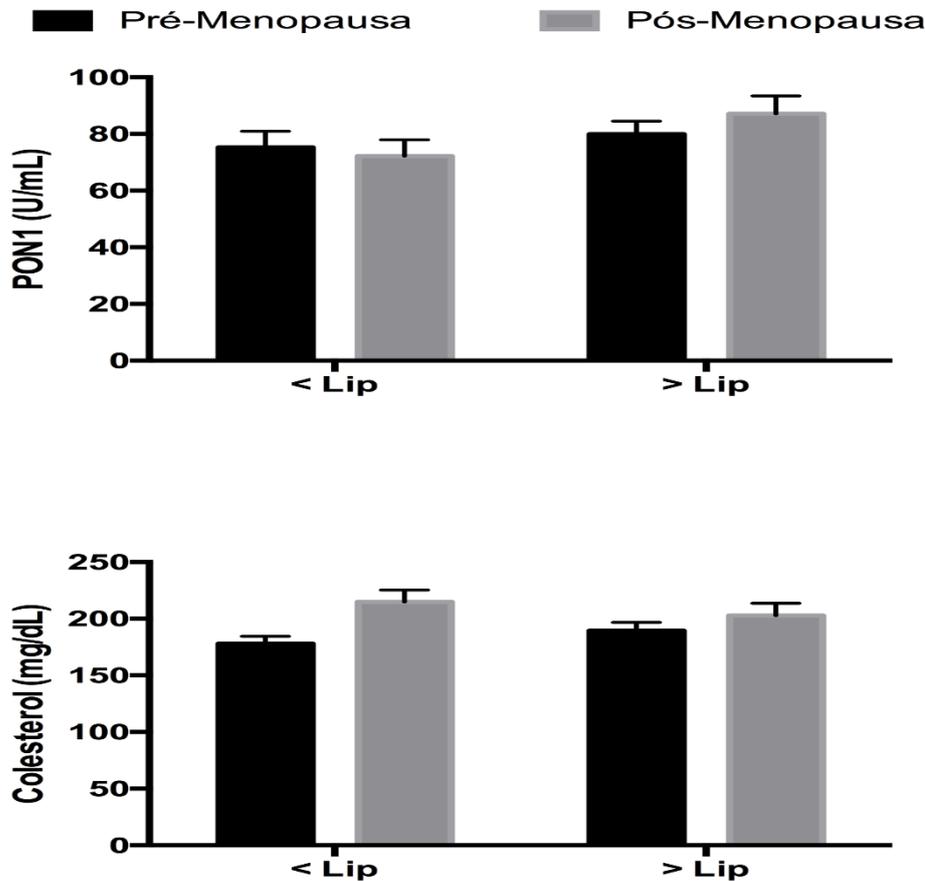


Figura 3- Associação da atividade da PON1 e do nível de colesterol sérico com o consumo de lipídios em mulheres pré e pós-menopausa.

A distribuição por média de consumo de calorias, macronutrientes, colesterol e fibras pode ser evidenciada na Tabela 4 e observa-se uma tendência de diminuição no consumo de calorias e carboidratos nas mulheres pós-menopausa.

Tabela 4- Distribuição por média consumo diário de calorias, macronutrientes, colesterol e fibras em mulheres pré e pós-menopausa.

	Pré (n= 55)	Pós (n=36)	P
Calorias(Kcal)	2746,8 ±158,3	2372,4 ±127,3	0,069
Carboidratos(g)	227,4 ± 13,9	195,3 ±10,3	0,067
Proteínas(g)	108,7 ± 6,5	96 ± 5,1	0,128
Lipídios(g)	33,8 ± 2,2	29,8 ± 2,0	0,175
Colesterol(mg)	103,8 ±8,5	86,1±12,5	0,247
Fibras(g)	15,8 ±6,5	16,4 ±7,9	0,650

Os valores estão expressos como média, ±erro padrão da média.

A figura 4 mostra que a atividade da PON 1 não foi influenciada pela a frequência do consumo de alimentos processados e *in natura*.

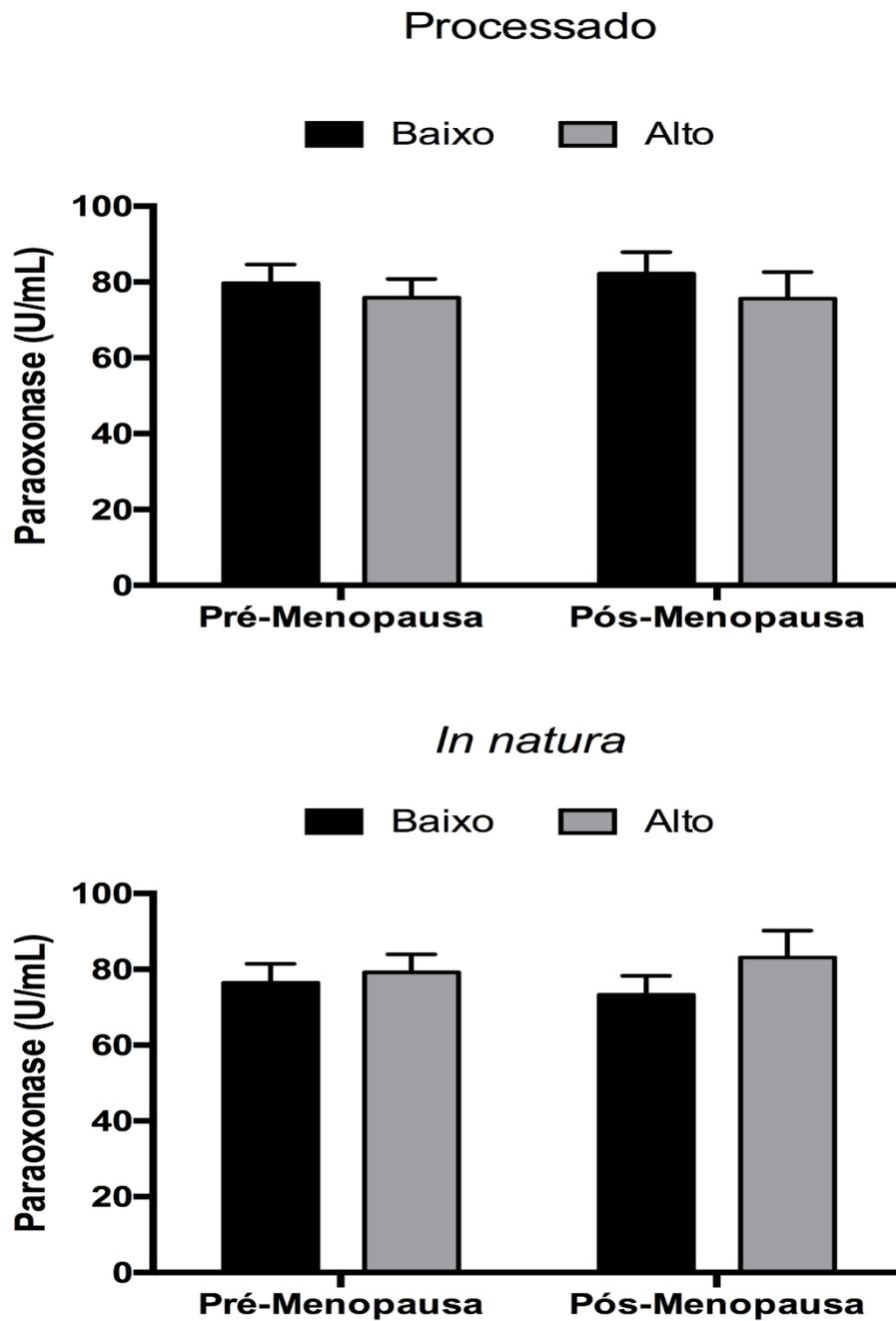


Figura 4- Associação da atividade da PON 1 e o consumo de alimentos processados e in natura em mulheres pré e pós-menopausa.

5-DISCUSSÃO

Neste estudo transversal, que investigou a associação da atividade da PON1 e seu polimorfismo C(-107)T com consumo alimentar e menopausa, foi evidenciado que o grupo de mulheres com genótipo TT apresentou diferença significativa baixa para a atividade da PON1. Houve predomínio de excesso de peso em ambos os grupos estudados. O perfil lipídico e glicêmico apresentou-se alterado nas mulheres pós-menopausa sendo significativa a alteração no nível de colesterol total e na glicemia de jejum, com tendências de aumento de LDL-c e HbA1c e diminuição do consumo de calorias e carboidratos neste mesmo grupo. Em relação ao consumo de lipídios, alimentos processados e *in natura* não houve interação com a atividade da PON 1 em nenhum dos grupos estudados (pré e pós-menopausa).

Na população estudada, a escolaridade predominante foi ensino médio completo/superior incompleto, sendo 54,7% nas mulheres pré-menopausa e 47,2% nas pós-menopausa, 80,2% das mulheres eram da cor branca e, a maior parte delas nunca fez uso de tabaco (71,4%), excluindo um dos fatores de risco para o desenvolvimento da DCV. Além disso, a maioria das mulheres em período reprodutivo não fazia uso de contraceptivo (58,8%). Em relação ao estado nutricional, verificou-se que em ambos os grupos, pré e pós-menopausa, houve predomínio de sobrepeso e obesidade, de 82,7% e 72,2%, respectivamente. Quanto as morbidades observam-se que estiverem presentes pelo menos uma morbidade em 60% e 86,2% das mulheres, pré e pós-menopausa, respectivamente, sendo a hipertensão arterial sistêmica a morbidade de maior ocorrência, em ambos os grupos. É possível sugerir que o excesso de peso observado na população de mulheres estudadas predispôs ao surgimento de outras doenças como dislipidemias, hipertensão, resistência à insulina e diabetes, as quais contribuem para a ocorrência de eventos cardíacos.

Quanto à atividade da PON1, o presente estudo não demonstrou diferença significativa entre os grupos, ao contrário do relatado por Li et al. (2003). Segundo o autor, as mulheres no período pós-menopausa apresentaram diminuição na atividade sérica da PON1, sendo também evidenciado um achado de IMC elevado. A plausibilidade proposta no estudo diz respeito aos efeitos relacionados ao estresse oxidativo observados na obesidade, os quais acarretam uma alteração da atividade da PON1 (SCHRADER; RIMBACH, 2011).

A maioria das mulheres que participaram do presente estudo apresentou o genótipo CT (45,2%), e apenas 25,8% apresentaram o genótipo CC, que é o responsável pela maior atividade da PON1, já o genótipo TT que se relaciona com a baixa expressão gênica e diminuída atividade sérica da enzima (KIM et al., 2013), foi encontrado em 29% da população. Esta distribuição é semelhante à encontrada no estudo de Santos et al. (2016), que foi também realizado com mulheres do sul do Brasil. Quanto à atividade da PON1 houve diferença entre os genótipos, com maior atividade da enzima nas mulheres apresentando genótipos CC e CT, enquanto que no genótipo TT, ambos os grupos pré e pós-menopausa, apresentaram baixa atividade da PON1. Esses resultados estão em concordância com o encontrado na literatura para o polimorfismo PON1 C(-107)T (CAMPO et al., 2004).

Sobre a influência dos lipídios na atividade da PON1 e no nível sérico de colesterol total, não foi verificada diferença significativa entre os grupos, sendo este achado semelhante ao encontrado em estudo que investigou a associação entre a atividade da PON1 e o consumo de lipídios e ácidos graxos saturados (KIM et al., 2012; KIM et al., 2013). Por outro lado, alguns estudos encontraram relação com a ingestão diária de lipídios e ácidos graxos (FERRE et al., 2003), enquanto que em outro, a associação foi negativa quanto ao consumo de colesterol e ácidos graxos (BLUM et al., 2006). A hipótese proposta para explicar o achado está baseada no fato do genótipo ser o principal modulador da atividade da PON1 (LEVIEV; JAMES, 2000; SUEHIRO et al., 2000; CAMPO et al., 2004).

Foi evidenciada uma diferença significativa no nível de colesterol total no grupo das mulheres pós-menopausa comparadas às pré-menopausa, e neste mesmo grupo houve uma tendência ao aumento de LDL-c, assim como de HDL-c e triglicerídeos, o que caracteriza um perfil lipídico alterado. Esse aumento não acontece na mesma proporção para a atividade da PON1 podendo ser a causa do aumento do risco cardiovascular. Conforme Ferin et al. (1993), os reduzidos níveis de estrogênios associados à dislipidemia pode aumentar o colesterol total e o LDL-c, por que reduz os receptores hepáticos de lipoproteínas, contribuindo para o aumento do risco de DCV no período pós-menopausa, visto que o perfil metabólico dessas mulheres sofre alterações que resultam em modificação na composição e distribuição do tecido adiposo. (MUST et al., 1999).

A glicemia também se apresentou aumentada nas mulheres pós-menopausa, sendo observada uma diferença estatística significativa. Em relação à HbA1c, foi constatado um aumento neste mesmo grupo, sendo o valor médio encontrado de $6,3 \pm 0,1\%$, o qual está de acordo ao preconizado pela AMERICAN DIABETES ASSOCIATION 2015 para controle glicêmico. Entretanto, esse aumento deve ser considerado como uma predisposição desta população para o desenvolvimento de Diabetes tipo II, pois juntamente com o IMC elevado, contribuem com o surgimento de diversos fatores de risco cardiovasculares como as dislipidemias, hipertensão arterial e resistência à insulina favorecendo assim ocorrência de eventos cardíacos (KANNEL et al., 2002; TONSTAD; HJERMANN, 2003).

Pode-se observar uma tendência de consumo mais baixo de calorias e carboidratos no grupo de mulheres pós menopausa, não havendo diferença significativa no consumo de colesterol e fibras. Em estudo realizado com 148 mulheres pós-menopausa, o consumo calórico médio foi de $1406,3 \pm 476,5$ Kcal/dia (STEINER et al., 2015). No presente estudo, a média encontrada foi $2372,4 \pm 127,3$ Kcal/dia, reforçando a necessidade de intervenção dietética para controle do excesso de peso, visto que a maioria da população estudada se encontra com sobrepeso e obesidade.

Em relação ao consumo de alimentos processados e *in natura*, não foi observada associação com a atividade da PON1 nas mulheres em ambos os grupos, o que difere do que foi evidenciado em outros estudos (RANTALA et al., 2002; KLEEMOLA et al., 2002). Nesses estudos foram relatados uma diminuição da atividade da PON1 com o alto consumo de vegetais. A atividade da PON 1 também pode ser modulada por outros fatores (COSTA et al., 2005; GOSWAMI et al., 2009), os quais não foram considerados no presente estudo e, por esta razão, pode ser que a dieta não tenha tido um efeito significativo. Outro ponto a ser considerado é o método de avaliação da frequência alimentar, visto que o tipo de inquérito alimentar apresenta viés, podendo apresentar subestimação ou omissão quanto aos alimentos consumidos, por dificuldade de memória, ou por omissão da quantidade real ingerida muito comum em indivíduos com excesso de peso (ROCHA et al., 2014).

6-CONCLUSÃO

Na população estudada somente o genótipo TT apresentou efeito sobre a PON. O perfil lipídico e glicêmico se apresentou alterado nas mulheres pós- menopausa, embora a maior média de consumo calórico e de carboidratos foi associada às mulheres pré-menopausa. O excesso de peso foi predominante em ambos os grupos estudados. Estes resultados reforçam a importância de intervenções preventivas e promotoras de estilo de vida saudável, a fim de contribuir para o controle dos fatores de risco modificáveis, visto que esta população apresenta predisposição para o desenvolvimento de DCV.

7 - REFERÊNCIAS

AMERICAN DIABETES ASSOCIATION. Standards of medical care in Diabetes 2015. **Diabetes Care**. V. 38, sup.1, jan. 2015.

AVIRAM, M.; ROSENBLAT, M.; BISGAIER, C.L.; NEWTON, R.S.; PRIMOPARMO, S.; LA DU, B.N. Paraoxonase inhibits high density lipoprotein oxidation and preserves its functions: a possible role for paraoxonase. **J. Clin. Invest.**, v. 101, p. 1581-1590, 1998.

AVIRAM, M.; HARDAK, E.; VAYA, J.; MAHMOOD, S.; MILO, S.; HOFFMAN, A.; BILLICKE, S.; DRAGANOV, D.; ROSENBLAT, M. Human serum paraoxonase (PON1) Q and R selectively decrease lipid peroxides in human coronary and carotid atherosclerotic lesions: PON1 esterase and peroxidaselike activities. **Circulation**, v. 101, n. 2, p. 2510-2517, 2000.

BHATTACHARYYA T, NICHOLLS SJ, et al. Relationship of paraoxonase 1 (PON-1) gene polymorphisms and funcional activity with systemic oxidative stress and cardiovascular risk. **JAMA**. 2008;209(11):1265-1276.

BLUM S, AVIRAM M, BEN-AMOTZ A, LEVY Y. Effect of a Mediterranean meal onpostprandial carotenoids, paraoxonase activity and C-reactive protein levels. **Ann Nutr Metab** 2006;50:20-4.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Ações Programáticas Estratégicas. Manual de Atenção à Mulher no Climatério/Menopausa / Ministério da Saúde, Secretaria de Atenção à Saúde, Departamento de Ações Programáticas Estratégicas. – Brasília Editorado Ministério da Saúde, 2008. 192 p.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. Guia alimentar para a população brasileira / Ministério da Saúde, Secretaria de Atenção à Saúde, Departamento de Atenção Básica. – 2. ed., 1. reimpr. – Brasília: Ministério da Saúde, 2014.

BROPHY VH, JAMPSA RL, CLENDENNING JB, MCKINSTRY LA, JARVIK GP, et al. Effects of 5' regulatory-region polymorphisms on paraoxonase-gene (PON1) expression. **Am J Hum Genet**. 2001;68:1428–36.

BROWNE, R. W. Accuracy and Biological Variation of Human Serum Paraoxonase1 Activity and Polymorfism (Q192R) by Kinetic Enzyme Assay. **Clinical Chemistry**. 2007. 53:2; 310-317.

CAMPO S, SARDO MA, TRIMARCHI G, BONAIUTO M, FONTANA L, CASTALDO M, BONAIUTO A, SAITTA C, BITTO A, MANDUCA B, RIGGIO S, SAITTA A. Association between serum paraoxonase (PON1) gene promoter T(-107)C polymorphism, PON1 activity and HDL levels in healthy Sicilian octogenarians. **Exp Geront** 2004;(39):1089-94.

CAMPS J, MARSILLACH, JOVEN J. Pharmacological and Lifestyle Factors Modulating Serum Paraoxonase-1 Activity. **Mini Rev Med Chem**. 2009;9(8):911-20.

CAMUZCUOGLU, H., ARIÖZ, D. T., TOY, H., KURT, S., CELIK, H., & EREL, O. Serum paraoxonase and arylesterase activities in patients with epithelial ovarian cancer. **Gynecologic Oncol**. 2009; 112:481-485.

CATAÑO, H. C., CUEVA, J. L., CARDENAS, A. M., IZAGUIRRE, V., ZAVALETA, A. I., CARRANZA, E., & HERNÁNDEZ, A. F. Distribution of paraoxonase-1 gene polymorphisms and enzyme activity in a Peruvian population. **Environmental and molecular mutagenesis**. 2006; 47(9), 699-706.

COSTA LG, VITALONE A, COLE TB, FURLONG CE. Modulation of paraoxonase (PON1) activity. **Biochem Pharmacol**. 2005;69:541-50.

DANTOINE, T.; DEBORD, J.; MERLE, L.; CHARMES, J.P. De l'intoxication par les composés organophosphorés à l'athérosclérose: rôles de la paraoxonase 1. **Rev. Med. Int.**, v. 24, p. 436-442, 2003.

DEAKIN S, LEVIEV I, BRULHART-MEYNET MC, JAMES RW. Paraoxonase-1 promoter haplotypes and serum paraoxonase: a predominant role for polymorphic position - 107, implicating the Sp1 transcription factor. **Biochem J**. 2003;372:643-9.

DRAGANOV, D.I.; LA DU, B. N. Pharmacogenetics of paraoxonases: a brief review. **Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.**, v. 369, p. 78-88, 2004.

DURRINGTON PN, MACKNESS B, et al. Paraoxonase and atherosclerosis. **Arterioscler Thromb Vasc Biol**. 2001;21:473-80.

ELKIRAN, E. T., MAR, N., AYGEN, B., GURSU, F., KARAOGLU, A., & KOCA, S. Serum paraoxonase and arylesterase activities in patients with lung cancer in a Turkish population. **BMC cancer**. 2007; 7(1), 48.

ENG CS, MOHAMED ALI S, ERIC YPH, GAN L, BING OY, SENG CK. Distribution of polymorphisms- PON1 Q192R and PON1 L55M among Chinese, Malay and Indian males in Singapore and possible susceptibility to organophosphate exposure. **Neurotoxicol.** 2009; 30:214-9.

EOM, S. Y., KIM, Y. S., LEE, C. J., LEE, C. H., KIM, Y. D., & KIM, H. Effects of intronic and exonic polymorphisms of paraoxonase 1 (PON1) gene on serum PON1 activity in a Korean population. **Journal of Korean medical Science.** 2011; 26(6), 720-725.

FAGGIONI, T. **O efeito do hábito de fumar sobre a atividade da enzima paraoxonase em uma população humana.** [Dissertação]. Rio de Janeiro: Escola Nacional de Saúde Pública, 2003.

FERIN M, JEWELWICZ R, WARREN M. The menstrual cycle: physiology, reproductive disorders and infertility. Oxford: **Oxford University Press**, 1993.

FERRÉ N, CAMPS J, FERNANDEZ-BALLART J, ARIJA V, MURPHY MM, CERUELO S, BIARNES E, VILELLA E, TOUS M, JOVEN J. Regulation of serum paraoxonase activity by genetic, nutritional and lifestyle factors in the general population. **Clin Chem** 2003;49:1491-7.

FERREIRA, PRS. **Freqüência das mutações Gln192Arg e Leu55Met no gene da paraoxonase 1 e das mutações Ser311Cis e A148G no gene da paraoxonase 2 em brasileiros de diferentes origens étnicas.** [Dissertação] São Paulo Faculdade de Medicina de São Paulo, 2007.

FLEKAC, M., SKRHA, J., ZIDKOVA, K., LACINOVA, Z., & HILGERTOVA, J. Paraoxonase 1 gene polymorphisms and enzyme activities in diabetes mellitus. **Physiological Res.**2008; 57: 717-26.

FUJISAWA, RT; VIEIRA, AEF; FUJISAWA, RM. Altos Níveis de HDL Colesterol: Proteção ou Risco Cardiovascular? Relato de Caso. **Rev. Bras. Clin. Med,** 2008; 6:279 281.

FUNDAÇÃO INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Indicadores sociais mínimos. Aspectos demográficos. Estimativas para 1999 extraídas do documento IBGE/DPE/DEPIS “**Projeção da população das grandes regiões por sexo e idade 1991-2020**” [on line] 2001. Disponível em <http://www.ibge.gov.br>

GOSWAMI B., TAYAL D., GUPTA, N., & MALLIKA V. Paraoxonase: A multifaceted biomolecule. **Clinica Chim Act.** 2009; 410 :1-12.

GUO SS, ZELLER C, CHUMLEA WC, SIERVOGEL RM. Aging, body composition, and lifestyle: the Fels Longitudinal Study. **Am J Clin Nutr** 1999; 70:405-11.

GUPTA, N., SINGH, S., MATURU, V. N., SHARMA, Y. P., & GILL, K. D. Paraoxonase 1 (PON1) polymorphisms, haplotypes and activity in predicting cad risk in North-West Indian Punjabis. **PLoS One**. 2011; 6(5), e17805.

HOLLAND, N., FURLONG, C., BASTAKI, M., RICHTER, R., BRADMAN, A., HUEN, K., BECKMAN K, ESKENAZI, B. Paraoxonase polymorphisms, haplotypes, and enzyme activity in Latino mothers and newborns. **Environmental Health Perspectives**. 2006; 114: 985-91.

HUEN K, HARLEY K, BRADMAN A, ESKENAZI B, HOLLAND N. Longitudinal changes in PON1 enzymatic activities in Mexican-American mothers and children with different genotypes and haplotypes. **Toxicol Appl Pharmacol**. 2010;244:181–9.

HUMBERT, R., ADLER, D. A., DISTECHE, C. M., HASSETT, C., OMIECINSKI, C. J. & FURLONG, C. E. (1993) The molecular basis of the human serum paraoxonase activity polymorphism. **Nat. Genet.** 3:73–76.

IBORRA, RT. **Treinamento físico aeróbio aumenta a capacidade antioxidante das HDL e reduz o estresse oxidativo plasmático no diabetes melito tipo 2.** [Dissertação] São Paulo Faculdade de Medicina de São Paulo, 2006.

IGNACIO, D. L.; FRANKENFELD, T. G. P, et al. Regulação da massa corpórea pelo estrogênio e pela atividade física. **Arquivo Brasileiro de Endocrinologia e Metabologia**, v. 53, n. 3, p. 310-17, 2009.

KANNEL WB, HJORTLAND MC, MCNAMARA PM, GORDON T. Menopause and risk of cardiovascular disease: the Framingham study. **Ann Intern Med**. 1976;85:447-52.

KANNEL WB, WILSON PW, NAM BH, D'AGOSTINO RB. Risk stratification of obesity as a coronary risk factor. **Am J Cardiol**. 2002;90:697-701. DOI: [http://dx.doi.org/10.1016/S0002-9149\(02\)02592-4](http://dx.doi.org/10.1016/S0002-9149(02)02592-4)

KEMMLER, W. et al. Exercise body composition, and functional ability: a randomized controlled. **American Journal of Preventive Medicine**, v. 38, n. 3, p. 279-287, 2010.

KIM DS, BURT AA, RANCHALIS JE, RICHTER RJ, MARSHALL JK, NAKAYAMA KS, JARVIK ER, EINTRACHT JF, ROSENTHAL EA, FURLONG CE, JARVIK GP. Dietary cholesterol increases paraoxanase1 enzyme activity. **J Lipid Res** 2012;53:2450-8.

KIM DS, MARSILLACH J, FURLONG CE, JARVIK GP. Pharmacogenetics of paraoxanase activity: elucidating the role of high-density lipoprotein in disease. **Pharmacogenetics** 2013;14:1495-515.

KLEEMOLA P, FREESE R, JAUHAINEN M, PAHLMAN R, ALFTHAN G, MUTANEN M. Dietary determinants of serum paraoxanase activity in healthy humans. **Atherosclerosis**. 2002;160:425-32.

LESCAI, F., MARCHEGANI, F., & FRANCESCHI, C. PON1 is a longevity gene: results of a meta-analysis. **Ageing Res Rev**. 2009; 8(4): 277-284.

LEVIEV I, JAMES RW. Promoter polymorphisms of human paraoxanase PON1 gene and serum paraoxanase activities and concentrations. **Arterioscler Thromb Vasc Biol** 2000;20:516-521.

LI, H.L.; LIU, D.P.; LIANG, C.C. Paraoxanase gene polymorphisms, oxidative stress, and diseases. **J. Mol. Med.**, v. 81, p. 766-779, 2003.

LIMA E, COUTO RD. Estrutura, metabolismo e funções fisiológicas da lipoproteína de alta densidade. **J Bras Patol Med Lab**. 2006;42(3):169-71.

LOPES TS, FERRIOLI E, HOFFMAN D, *et al.* (2009) Validation of estimates of energy intake by food frequency questionnaire against doubly labeled water *Rev Chilena de Nutrición* 36,614-614.

MACKNESS, M.I.; MACKNESS, B.; DURRINGTON, P.N.; CONNELLY, P.W.; HEGELE, R.A. Paraoxanase: biochemistry, genetics and relationship to plasma lipoproteins. **Curr. Opin. Lipidol.**, v. 7, p. 69-76, 1996.

MACKNESS, M., & MACKNESS, B. Paraoxanase 1 and atherosclerosis: is the gene or the protein more important?. **Free Radical Biology and Medicine**. 2004 37(9):1317-1323.

MARCHEGANI F, SPAZZAFUMO L, *et al.* Paraoxanase2 C311S polymorphism and low levels of HDL contribute to a higher mortality risk after acute myocardial infarction in elderly patients. **Molecular Genetics and Metabolism**. 2009;98:314–318.

MILECH A, OLIVEIRA JEP, VENCIO S. Diretrizes da Sociedade Brasileira de Diabetes (SBD) 2015-2016. Organização José Egidio Paulo de Oliveira, Sérgio Vencio - São Paulo: A.C. Farmacêutica, 2016.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Plano de ações estratégicas para o enfrentamento das doenças crônicas não transmissíveis no Brasil 2011-2012. Brasília; 2011.

MOHAMMADI, E.; RAFRAF, M. Benefits of omega-3 fatty acids supplementation on serum paraoxonase 1 activity and lipids ratios in polycystic ovary syndrome. **Health promotion perspectives**, vol. 2, no. 2, 2012. P: 197-204.

MUST, A.; SPADANO, J.; COAKLEY, E. H.; FIELD, A. E.; COLDITZ, G.; DIETZ, W. H. The disease burden associated with overweight and obesity. **JAMA.**, v. 282, n. 16, p. 1523-1529, 1999.

NAVAB, M.; HAMA-LEVY, S.; VAN LENTEN, B.J.; FONAROW, G.C.; CARDINEZ, C.J.; CASTELLANI, L.W.; BRENNAN, M.L.; LUSIS, A.J.; FOGELMAN, AM.; LA DU, B.N. Mildly oxidized LDL induces an increased apolipoprotein J/paraoxonase ratio. **J. Clin. Invest.**, v. 99, p. 2005-2009, 1997

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE (OMS). **Physical status:** the use and interpretation of anthropometry. Geneva: World Health Organization; 1995. (Technical Report Series, 854).

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE (OMS). Cardiovascular Diseases (CVDs). Fact Sheet nº 317;2011.

PARRA, S., MARSILLACH, J., ARAGONÈS, G., RULL, A., BELTRÁN-DEBÓN, R., ALONSO-VILLAVARDE, C., ... & CAMPS, J. (2010). Methodological constraints in interpreting serum paraoxonase-1 activity measurements: an example from a study in HIV-infected patients. **Lipids in health and disease**, 9(1), 32.

PRAKASH, M., SHETTY, J. K., TRIPATHY, S., VERMA, M., VASUDEV, S., & BHANDARY, P. V. Serum paraoxonase in alcohol abusers associated with alcoholic liver disease. **Clinica chimica acta**. 2007; 378(1), 232-234.

PUK CG. **Tamanho da HDL e a capacidade de receber colesterol, éster de colesterol, fosfolípidos e triglicerídeos de uma lipoproteína artificial (LDE): estudo com pacientes em transplante cardíaco** em andamento [Tese]. São Paulo (SP): Universidade de São Paulo; 2007.

RANTALA, MAIRE, et al. Dietary modifications and gene polymorphisms alter serum paraoxonase activity in healthy women. **The Journal of nutrition**, 2002, 132.10: 3012-3017.

RIOS, D. L., D'ONOFRIO, L. O., CERQUEIRA, C., BONFIM-SILVA, R., CARVALHO, H. G., SANTOS-FILHO, A., & GALVÃO-CASTRO, B. (2007). Paraoxonase 1 gene polymorphisms in angiographically assessed coronary artery disease: evidence for gender interaction among Brazilians. *Clinical Chemical Laboratory Medicine*. 2007; 45(7), 874-878.

ROCHA, J. S. B et al. Perfil antropométrico e qualidade de vida em mulheres climatéricas. *Arquivos Catarinenses de Medicina*, v. 43, m. 1, p. 60-64, 2014.

SAMANTA B. Serum cholesterol in healthy postmenopausal women. *Indian J Med Sci* 1998; 52(5): 191-5.

SANTOS, F., et al. The effect of the paraoxonase 1 (PON1) T (- 107) C polymorphism on serum PON1 activity in women is dependent on fatty acid intake. *Nutrition Research*, 2016, 36.1: 9-15.

SCHRADER C, RIMBACH G. Determinants of paraoxonase 1 status: genes, drugs and nutrition. *Curr Med Chem*. 2011;18:5624–43.

SERES, I., PARAGH, G., DESCHENE, E., FULOP, T., & KHALIL, A.. Study of factors influencing the decreased HDL associated PON1 activity with aging. *Experimental gerontology*. 2004; 39(1), 59-66.

SICHERI R & EVERHART JE (1998) Validity of a Brazilian food frequency questionnaire against dietary recalls and estimated energy intake. *Nutrition Research* 18,1649-1659.

SIMIÃO et al., I Diretriz de Prevenção Cardiovascular da Sociedade Brasileira de Cardiologia – Resumo Executivo I Cardiovascular Prevention Guideline of the Brazilian Society of Cardiology – Executive Summary. *Arq Bras Cardiol*. 2013; 102(5):420-431.

SINGH, S., KUMAR, V., THAKUR, S., BANERJEE, B. D., RAUTELA, R. S., GROVER, S. S., ... & RAI, A. Paraoxonase-1 genetic polymorphisms and susceptibility to DNA damage in workers occupationally exposed to organophosphate pesticides. *Toxicology and applied pharmacology*. 2011; 252(2), 130-137.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA (SBC). *Arquivo Brasileiro de Cardiologia*. V Diretriz Brasileira de Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose. 2013. 101(4Supl.3):1-22.

SOYMAN, Z. et al. Serum paraoxonase 1 activity, asymmetric dimethylarginine levels and brachial artery flow-mediated dilatation in women with polycystic ovary syndrome. **Fertility and Sterility**. march 1 2011. Vol. 95, n. 3

STEINER, Marcelo Luis et al. Avaliação de consumo alimentar, medidas antropométricas e tempo de menopausa de mulheres na pós-menopausa. **Rev. Bras. Ginecol. Obstet.** [online]. 2015, vol.37, n.1, pp.16-23. ISSN 0100-7203. <http://dx.doi.org/10.1590/SO100-720320140005138>.

STEVENS, V. L., RODRIGUEZ, C., PAVLUK, A. L., THUN, M. J., & CALLE, E. E. Association of polymorphisms in the paraoxonase 1 gene with breast cancer incidence in the CPS-II Nutrition Cohort. *Cancer Epidemiology and Prevention Biomarkers*. 2006; 15(6), 1226-1228.

SUEHIRO T, NAKAMURA T, INOUE M, SHIINOKI T, IKEDA Y, KUMON Y, SHINDO M, TANAKA H, HASHIMOTO K. A polymorphism upstream from the human paraoxonase (PON1) gene and its association with PON1 expression. **Atherosclerosis** 2000;150:295-8.

SUMEGOVÁ, K., BLAŽÍČEK, P., FUHRMAN, B., WACZULÍKOVÁ, I., & ĎURAČKOVÁ, Z. Paraoxonase 1 (PON1) and its relationship to lipid variables, age and gender in healthy volunteers. **Biologia**. 2006; 61(6), 699-704.

TOMAS, M.; LATORRE, G.; SENTI, M.; MARRUGAT, J. The antioxidant function of high density lipoproteins: a new paradigm in atherosclerosis. **Rev. Esp. Cardiol.**, v. 57, n. 6, p. 557-569, 2004.

TONSTAD S, HJERMANN I. A high risk score for coronary heart disease is associated with the metabolic syndrome in 40-year-old men and women. **J Cardiovasc Risk**. 2003; 10:129-35.

TSAKIRIS, S., KARIKAS, G. A., PARTHIMOS, T., TSAKIRIS, T., BAKOGIANNIS, C., & SCHULPIS, K. H. Alpha-tocopherol supplementation prevents the exercise-induced reduction of serum paraoxonase 1/arylesterase activities in healthy individuals. **European journal of clinical nutrition**. 2009; 63(2), 215.

WATSON, A.D.; BERLINER, J.A.; HAMA, S.Y.; LA DU, B.N.; FAULL, K.F.; FOGELMAN, A.M.; NAVAB, M. Protective effect of high density lipoprotein associated paraoxonase: inhibition of the biological activity of minimally oxidized low density lipoprotein. **J. Clin. Invest.**, v. 96, p. 2882-2891, 1995.

WILLETT WC. Nutritional epidemiology. 2nd ed. New York: **Oxford University Press**; 1998

8 - ANEXOS

ANEXO A – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
FACULDADE DE NUTRIÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NUTRIÇÃO E ALIMENTOS

Associações da atividade sérica da paraoxonase 1 e seu polimorfismo C(-107)T com o consumo alimentar em mulheres pré e pós-menopausa atendidas em serviço de nutrição

Pesquisador responsável: Mauren de Castro Ritta

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Eu, _____, **Nutricionista**, estou convidando você a participar como voluntária da pesquisa sobre “Associações da atividade sérica da paraoxonase 1 e seu polimorfismo C(-107)T com o consumo alimentar em mulheres pré e pós-menopausa atendidas em serviço de nutrição.”

Você foi selecionado de acordo com suas características descritas em seu prontuário na Unidade Básica de Saúde da Família. Sua participação não é obrigatória, a qualquer momento, você pode desistir de participar e retirar seu consentimento. Sua recusa não trará nenhum prejuízo em sua relação com o pesquisador ou com a instituição. Se tiver qualquer dúvida, você terá o direito de entrar em contato com o pesquisador ou com o Conselho de Ética da Pesquisa.

Os objetivos deste estudo são: Verificar peso, altura, Índice de Massa Corporal (IMC), atividade sérica da enzima Paraoxonase 1 na amostra de sangue coletada e o polimorfismo genético relacionados ao sexo feminino e a idade através da coleta de saliva. Esses parâmetros serão analisados com o intuito de relacionar a baixa atividade da enzima PON1 apresentada por mulheres com idade mais avançada. A amostra de sangue e de saliva coletados serão desprezados após a intervenção e análise dos dados. Acreditamos que essa pesquisa seja importante para podermos analisar as características das mulheres relacionando ao risco de doenças crônicas não transmissíveis e à atividade da paraoxonase e o envelhecimento.

Os riscos relacionados com sua participação são: Invasivo – no momento da coleta do sangue e um certo desconforto na coleta da saliva.

Custo/Reembolso para o participante: ao participar dessa pesquisa, você não arcará com nenhum gasto decorrente de sua participação. Os exames serão totalmente gratuitos e você não receberá nenhuma cobrança ou gratificação em dinheiro ao final do estudo.

Os benefícios relacionados com a sua participação são: Oportunidade de fazer um exame clínico de colesterol total, HDL, LDL e antropométrico por profissionais da área da saúde e encaminhamento para um atendimento especializado se necessário.

Confidencialidade da pesquisa: garantimos que sua privacidade será mantida quanto aos dados envolvidos na pesquisa e somente os dados relacionados diretamente ao estudo serão divulgados em eventos ou publicações científicas sem que haja identificação dos participantes.

Nome e assinatura do pesquisador

Consentimento de participação da pessoa entrevistada

Eu, (nome completo do voluntário), após a leitura deste documento e ter tido a oportunidade de conversar com o pesquisador responsável, para esclarecer todas as minhas dúvidas, acredito estar suficientemente informado, ficando claro para mim que minha participação é voluntária e que posso retirar este consentimento a qualquer momento sem penalidades ou perda de qualquer benefício. Estou ciente também dos objetivos da pesquisa, dos procedimentos aos quais serei submetido, dos possíveis danos ou riscos deles provenientes e da garantia de confidencialidade e esclarecimentos sempre que desejar. Diante do exposto expresso minha concordância de espontânea vontade em participar deste estudo.

Assinatura do voluntário ou de seu representante legal

Assinatura de uma testemunha

Declaro que obtive de forma apropriada e voluntária o Consentimento Livre e Esclarecido deste voluntário para a participação neste estudo.

Assinatura do responsável pela obtenção do TCLE

Dados dos pesquisadores:

Mauren de Castro Ritta –

Telefones: (53) 81587790

Faculdade de Nutrição - Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Alimentos

Universidade Federal de Pelotas

Campus Porto

E-mail para contato: maurenritta@yahoo.com.br

Dados do orientador:

Prof. Dr. Augusto Schneider

Faculdade de Nutrição – Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Alimentos

Universidade Federal de Pelotas

Campos Porto

E-mail para contato: augustoschneider@gmail.com

Pelotas, julho de 2016.

ANEXO B – VALORES DE REFERÊNCIA PERFIL LIPÍDICO

Tabela II. Valores referenciais do perfil lipídico para adultos maiores de 20 anos

Lípides	Valores (mg/dl)	Categoria
CT	< 200	Desejável
	200-239	Limítrofe
	≥ 240	Alto
LDL-C	< 100	Ótimo
	100-129	Desejável
	130-159	Limítrofe
	160-189	Alto
	≥ 190	Muito alto
HDL-C	> 60	Desejável
	< 40	Baixo
TG	<150	Desejável
	150-200	Limítrofe
	200-499	Alto
	≥ 500	Muito alto
Colesterol não-HDL	< 130	Ótimo
	130-159	Desejável
	160-189	Alto
	≥ 190	Muito alto

Fonte:SBC, 2013

ANEXO C – VALORES DE REFERÊNCIA GLICEMIA E HEMOGLOBINA GLICADA

Quadro 3 Metas laboratoriais para o tratamento do diabetes tipo 2.

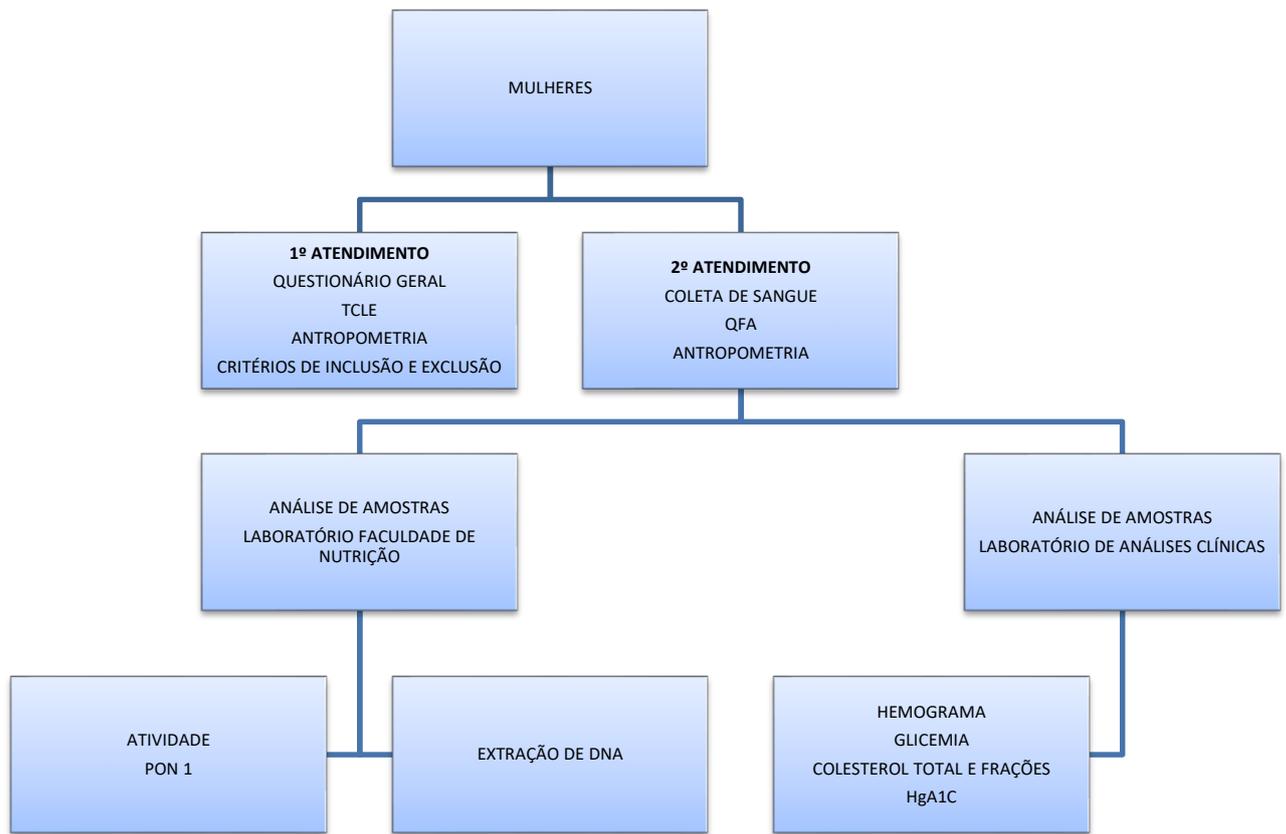
Parâmetro	Metas laboratoriais	
	Metas terapêuticas	Níveis toleráveis
Hemoglobina glicada	Em torno de 7% em adultos, sendo entre 7,5 e 8,5% em idosos, dependendo do estado de saúde	As metas devem ser individualizadas de acordo com a duração de diabetes, idade/expectativa de vida, comorbidades, doença cardiovascular, complicações microvasculares e hipoglicemia não percebida
Glicemia de jejum	< 110 mg/dℓ	Até 130 mg/dℓ
Glicemia pré-prandial	< 110 mg/dℓ	Até 130 mg/dℓ
Glicemia pós-prandial	< 160 mg/dℓ	Até 180 mg/dℓ

Adaptado de American Diabetes Association. Standards of Medical Care in Diabetes – 2015. Diabetes Care. 2015; 38(suppl 1):S1-S94. DOI: 10.2337/dc15-S003.

Fonte: Diretrizes da Sociedade Brasileira Diabetes (MILECH et al., 2016)

ANEXO D - PROTOCOLO PARA EXTRAÇÃO DE DNA

- Ligar o banho e estabilizar à temperatura de 55°C.
- Verificar reagentes necessários: amostras de sangue, microtubos de 1,5mL (2x), tampão de lise de Hemácias, Tampão de lise de núcleo, proteinase K, NaCl saturado (5M), clorofórmio, etanol 100% (-20°C) e TE buffer (tampão Tris-EDTA).
- Depois de numerar os novos microtubos, acrescentar **1000 µL** de tampão de lise de hemácias em cada um.
- Após, acrescentar **250 µL** de sangue da amostra ao microtubo.
- Agitar o microtubo suavemente até a homogeneização no vórtex.
- Centrifugar os microtubos por **2 minutos a 7000 rpm, cuidando para que** todos fiquem com a tampa para o mesmo sentido.
- Descartar o líquido sobrenadante com cuidado para deixar o *pelet* e repetir o processo com o tampão de lise de hemácias por até **3x**
- Na terceira vez descartar o líquido e colocar os tubos virados para baixo em papel absorvente até a secagem completa e com cuidado para não deixar escorregar o *pelet*.
- Adicionar **400 µL** do tampão de lise de núcleo ao microtubo.
- Adicionar **10 µL** de proteinase K ao microtubo. Passar os microtubos no vortex para soltar o *pelet* e levar para incubar durante **1 hora a 55°C**, agitando no vórtex a cada **15 minutos**
- Após retirar os microtubos do banho passar no vórtex para certificar de que o *pelet* tenha desaparecido totalmente e acrescentar **100 µL** de NaCl Saturado (5M)
- Acrescentar **600 µL** de clorofórmio aos microtubos. Levar ao freezer por **10 minutos, o que** aumenta o volume de sobrenadante.
- Homogeneizar **no vórtex** antes de levar à centrifuga por **2 minutos a 9000 rpm**, manuseando o microtubo com cuidado para não misturar o sobrenadante
- Preparar novos microtubos numerados e acrescentar **800 µL** de etanol 100% (-20°C) aos novos microtubos.
- Transferir **400 µL** do sobrenadante (sem encostar na delimitação) para o novo microtubo com etanol, descartar o restante.
- Agitar no vórtex imediatamente após adicionar o sobrenadante ao etanol.
- Centrifugar a **12000 rpm** por **5 minutos**.
- Descartar o líquido restante e deixar os microtubos virados para baixo no papel toalha para escorrer o excesso totalmente.
- Centrifugar novamente por segundos, parando na marca de **6000 rpm**, e retirar o álcool com pipeta de 10 uL (ponteira branca)
- Adicionar **50 µL** de TE buffer e passar no vórtex.
- Levar ao banho de 55°C por 2 minutos.
- Conservar a 4°C ou a -20°C (no freezer)

ANEXO E – FLUXOGRAMA

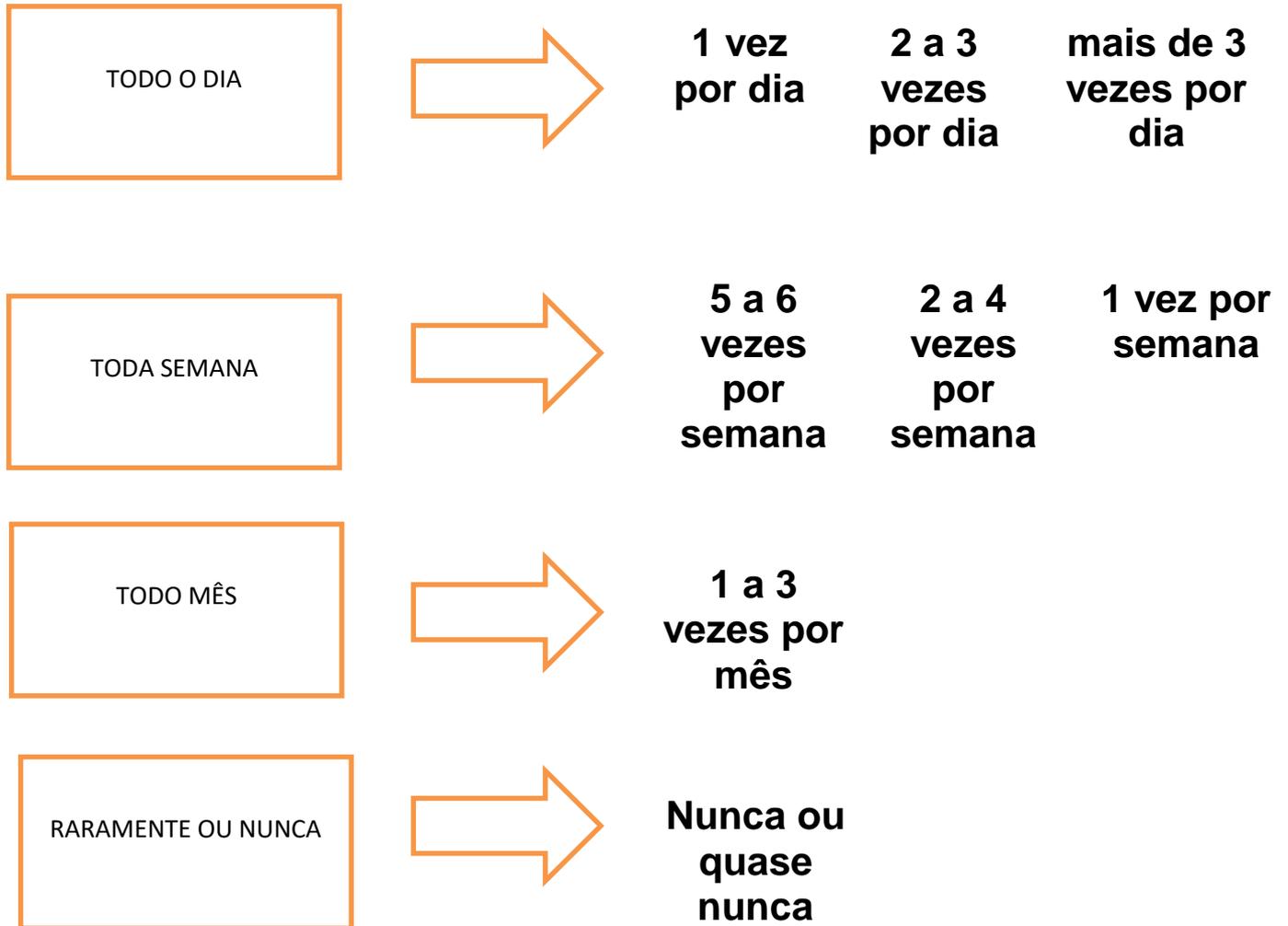
**ANEXO F – TABELA DE CLASSIFICAÇÃO DO ESTADO NUTRICIONAL DE
ACORDO COM O IMC**

Classificação IMC (kg/m²)	Idade 18 – 60 anos
Baixo peso	<18,5
Eutrofia	18,5 – 24,99
Excesso de peso/sobrepeso	25 – 29,99
Obesidade grau I	30 – 34,99
Obesidade grau II	35 – 39,99
Obesidade grau III	>40

Fonte: OMS, 1995.

PRODUTO	QUANTIDADE			Frequência							
				Mais de 3 vezes por dia	2 a 3 vezes por dia	1 vez por dia	5 a 6 vezes por semana	2 a 4 vezes por semana	1 vez por semana	1 a 3 vezes por mês	Nunca ou quase nunca
Abacaxi	1 fatia	2 fatias	3 fatias ou mais								
Manga	1 unidade		2 unidades ou mais								
Uva	1/2 cacho	1 cacho	2 cachos ou mais								
Ovos	1 ovo	2 ovos	3 ovos ou mais								
Peixe fresco	1 filé ou posta		2 filés ou 2 postas ou mais								
Carne de porco	1 pedaço		2 pedaços ou mais								
Frango	1 pedaço		2 pedaços ou mais								
Carne de boi	1 bife ou 1 pedaço médio, 3 colheres de sopa de carne ensopada ou de carne moída		2 bifés ou 2 pedaços médio, 6 colheres de sopa de carne ensopada ou de carne moída								
Hambúrguer	1 hambúrguer		2 hambúrgueres ou mais								
Sardinha ou atum (lata)	Marque só a frequência										
Bucho, fígado, moela, coração	Marque só a frequência										
Salsicha	1 unidade média	2 unidades médias	3 unidades médias ou mais								
Lingüiça	1 unidade média	2 unidades médias	3 unidades médias ou mais								
Frios como mortadela, presunto, apresuntado, salame,	Marque só a frequência										
Bacon ou toucinho	Marque só a frequência										
Carnes ou peixes conservados em sal; bacalhau, carne seca, etc.	Marque só a frequência										
Churrasco	Marque só a frequência										

ANEXO H – MODELO DE CARTÃO-RESPOSTA



ANEXO I - LISTA DE ALIMENTOS PROCESSADOS E *IN NATURA*

Processados e Ultra Processados	Por semana
Café	11,4
Açúcar	8,4
Manteiga ou margarina	8,1
Pão francês ou pão de forma	7,3
Chá ou mate	5,1
Biscoito salgado	4,4
Queijo	2,1
Frios	2,0
Iogurte	1,3
Bacon ou toucinho	1,3
Macarrão	1,1
Refrigerantes à base de cola	1,1
Requeijão	1,0
Maionese	1,0
Outros refrigerantes	1,0
Lingüiça	0,9
Biscoito doce	0,8
Chocolate ou Bombom	0,8
Bolo	0,7
Batata frita, chips ou palha	0,6
Alimentos enlatados	0,6
Chocolate em pó ou Nescau	0,5
Sorvete	0,5
Farinha de mandioca	0,5
Doce à base de fruta	0,4
Doce à base de leite	0,3
Pizza	0,3
Salgados tipo risoli, coxinha	0,3
Amendoim	0,2
Cerveja	0,2
Biscoito recheado	0,2
Salsicha	0,2
Salgadinhos tipo Cheetos	0,2
Sardinha ou atum (lata)	0,1
Lasanha, Ravióli, Nhoque	0,1
Vinho	0,1
Hambúrguer	0,1
Polenta ou Angu	0,1
Carnes ou peixes conservados em sal	0,1
Outras bebidas alcoólicas	0,0

<i>In natura</i>	Por semana
Cebola	8,4
Alho	7,9
Tomate	6,4
Pimentão	5,3
Banana	4,8
Alface	4,4
Laranja ou tangerina	3,2
Maçã	1,8
Couve	1,8
Cenoura	1,5
Beterraba	1,5
Mamão	1,4
Melancia ou Melão	1,1
Pepino	1,1
Couve-flor ou Brócolis	0,8
Abacaxi	0,8
Abóbora	0,7
Chuchu	0,6
Vagem	0,6
Manga	0,5
Repolho	0,5
Uva	0,5
Linhaça	0,4
Abobrinha	0,2
Chia	0,1
Quiabo	0,0

ANEXO J – QUESTIONÁRIO GERAL

Questionário	
Entrevistador: _____ Digitador : _____	Data: __/__/__ Data: __/__/__
Dados Pessoais	
Nome: _____ nº de identificação: _____	____ _
Data de nascimento: __/__/____ Idade: (anos)	__ _
Cor: 01- Branca 02- Preta 03-Parda 04- Amarelo 05- Indígena	__ _
Escolaridade: 01- Nenhum/ fundamental incompleto 02- Fundamental completo/ médio incompleto 03- Médio completo/superior incompleto 04- Superior completo	__ _
Histórico Ginecológico	
Idade da primeira menstruação:(anos)	__ _
Data da última menstruação: __/__/____	
Idade da menopausa: (anos)	__ _
Faz uso de contraceptivo hormonal? 01- Sim 02-Não	__ _
Se sim: 01- oral 02- injetável 03-outro. Qual? _____	__ _
Têm ou já teve alguma doença ginecológica: 01-Sim 02-Não	__ _
Se sim: qual? _____	
Hábitos de vida	
Realiza atividade física regularmente? 01-Sim 02-Não	__ _
Se sim:	
Com que frequência: 01- 2x/ semana 02- 3x/semana 03- 4x ou mais na semana	__ _
Qual a duração: 01- 20 min 02- 30 min 03- 45 min 04- 60 min ou mais	__ _
Qual atividade realiza: 01- Leve 02- Moderada 03- Intensa	__ _
Quanto ao tabagismo: 01- Fumante 02- não fumante 03- se já foi fumante	__ _
Se fumante:	
Com qual idade começou a fumar?	__ _
Quantos cigarros fuma por dia? 01- ½ maço 02- 1 maço 03- 1 e ½ maço 04- mais de 2 maços	__ _
Se já foi fumante:	
Há quanto tempo parou? (anos)	__ _
Por quanto tempo fez uso do tabaco? (anos)	__ _
Dados antropométricos	
Peso 1 (kg)	____ _
IMC 1 (kg/m ²)	____ _
Altura (m)	____ _
Peso 2 (kg)	____ _
IMC 2 (kg/m ²)	____ _
Medicações utilizadas	
Nome / mg/posologia/quanto tempo usa?(meses) _____	

	Data __/__/__
Hemoglobina (g%)	
Hematócrito (%)	
Leucócitos (ul)	
Plaquetas (mm ³)	
Colesterol total (mg/dl)	
HDL-c (mg/dl)	
LDL-c (mg/dl)	
Triglicéridos (mg/dl)	
Glicemia de jejum(mg/dl)	
HbA1c (%)	