



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ
PRÓ-REITORIA DE ENSINO DE PÓS-GRADUAÇÃO
CENTRO DE CIÊNCIAS E SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS E SAÚDE

SUSY ÉRIKA DE LIMA BARROS

**Concentrações de Selênio e Selenoproteína P e sua Relação com o Estresse
Oxidativo em Pacientes com Doença de Crohn**

Teresina
2016

SUSY ÉRIKA DE LIMA BARROS

**Concentração de Selênio e Selenoproteína P e sua Relação com o Estresse
Oxidativo em Pacientes com Doença de Crohn**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências e Saúde da Universidade Federal do Piauí como requisito para obtenção do título de mestre em Ciências e Saúde.

Área de concentração: Métodos Diagnósticos e Análise das Condições de Saúde

Linha de Pesquisa: Nutrição e Saúde

Orientadora: Prof^a Dra. Nadir do Nascimento Nogueira

Coorientador: Dr. José Miguel Luz Parente

Teresina
2016

SUSY ÉRIKA DE LIMA BARROS

**Concentração de Selênio e Selenoproteínas e sua Relação com o Estresse
Oxidativo em Pacientes com Doença de Crohn**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências e Saúde da Universidade Federal do Piauí como requisito para obtenção do título de mestre em Ciências e Saúde.

Aprovada em ___/___/___.

Banca examinadora:

Presidente: Profa. Dra. Nadir do Nascimento Nogueira

1º Examinador: Profa. Dra. Carla Soraya Costa Maia

2º Examinador: Profa. Dra. Dilina do Nascimento Marreiro

Examinador Suplente: Profa. Dra. Maria do Carmo Carvalho e Martins

“Cultive, construa e plante ações que não sejam apenas para você, mas que possam servir para todos e para o futuro. Se hoje não é tempo de colher, pode muito bem ser tempo de semear... Seja um bom semeador!”

(Autor desconhecido)

*Aos meus pais, que abdicaram
dos seus sonhos para tornar o
meu real.*

AGRADECIMENTOS

À **Deus**, pela vida e pela fé que me rege, por nunca me desamparar e pelas pessoas que colocou em minha vida.

Aos **meus pais, Edilson e Susana**, por tudo que me ensinaram e me proporcionaram. Por mesmo diante das dificuldades, nunca terem hesitado em me dar uma educação de qualidade, por acreditarem em mim e por terem me ensinado a nunca deixar de acreditar. Obrigada pelas orações que me alcançavam todos os dias. Vocês são exemplo e inspiração para mim. São os maiores mestres que a vida poderia me dar. Às minhas queridas **irmãs, Susy Anne e Laellya**, pelo apoio e companheirismo; sei que sempre poderei contar com vocês.

À **minha avó, Francisca**, por ter mudado toda a sua vida em prol da minha, nunca esquecerei tudo o que fez e faz por mim, talvez sem a senhora eu não estaria aqui concluindo essa etapa.

Ao meu **noivo, Thiago Pinheiro**, por ter me despertado para a carreira acadêmica e me ajudado na construção desse trabalho, você é uma grande inspiração. Por me apoiar, me compreender e por me completar. Sou muito mais feliz por tê-lo como companheiro.

Aos meus sogros sempre carinhosos, **Carlos e Rosa**, por estarem sempre por perto e por estenderem a mão sempre que precisei.

À minha orientadora, **Prof. Dra Nadir Nogueira**, pelo carinho, paciência, disponibilidade, ensinamentos, confiança e pelo apoio frente as dificuldades deste trabalho. Pelo exemplo e dedicação em realmente fazer ciência.

À **Universidade Federal do Piauí**, e a **Coordenação do Mestrado em Ciências e Saúde**, pela oportunidade e apoio. Sou muito grata.

Ao corpo docente do Programa de Pós-graduação em Ciências e Saúde, pelos conhecimentos transmitidos. Aos meus queridos professores da graduação, por todo o conhecimento proporcionado, em especial às **professoras Geânia Paz, Adriana Paiva e Socorro Alencar** por todo o carinho em suas orientações e por terem despertado em mim o olhar científico.

Aos **colegas de mestrado da turma 2014-2016**, pela amizade, convivência e troca de experiências científicas multiprofissionais.

Aos funcionários do Departamento de Nutrição, em especial à Carol, D. Maísa e Sr. Osvaldo pela disponibilidade de sempre.

À **diretoria e aos funcionários do Hospital Universitário**, pelo consentimento, apoio, colaboração e suporte na realização desta pesquisa.

À **Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES)**, pela contribuição financeira com a concessão da bolsa de estudo.

À toda a minha **família e amigos** pelo apoio e incentivo.

Aos **participantes do estudo**, pela colaboração e disponibilidade.

A todas as amigas que o **LANEX** me deu, **Mariana, Juliana Eulálio, Priscyla, Daila, Jennifer, Juliana Severo, Taynáh, Kyria, Ana Raquel, Luana, Raíssa, Stefany, Loane e Maísa**, pelo apoio e por me acompanharem nesta trajetória. Ao grupo DII; **Mayara Storel, Nina Soares, Nayanne Pierot e Thaline Milane**; por compartilharem comigo conhecimentos, conquistas e até mesmo dificuldades. Obrigada pelo convívio, que gerou ricas trocas de experiências científicas e de vida. Em especial, agradeço à **Thaline**, companheira de pesquisa.

Às amigas que o mestrado me deu, **Mayara Storel, Mayara Feitosa, Deylane e Larissa Cristina**. Vocês tornaram essa caminhada mais divertida. Em especial às “selenetes”, foi muito bom dividir esse desafio com vocês, sentirei muita falta.

Ao **Dr. José Miguel** pelas valiosas sugestões na qualificação e apoio na realização deste trabalho, bem como à **Prof. Dra Regina Célia**, sempre disponível e solicita a ajudar, agradeço-a também pela ajuda com as análises de TBARS.

À **Prof. Dra. Carla Soraya**, por ter me acolhido em seu laboratório para as análises de GPx1. Pelas valiosas contribuições e pelo carinho e delicadeza com que sempre contribuiu para o enriquecimento deste trabalho.

Ao professor **Dr. Gilberto Simeone**, pelo carinho com que sempre me atendeu e pelas análises de selênio.

Às **Prof. Dra Regilda Saraiva e Prof. Dra. Dilina Marreiro**, que oportunizaram o uso dos seus respectivos laboratórios para a realização das análises deste estudo, em especial à **Prof. Dilina** pelas valiosas contribuições.

À **Kaluce Almondes**, pelas detalhadas orientações sobre as análises de selênio. À **Cinthya Vivianne** e a **Camila Oliveira**, sempre disponíveis, obrigada pela ajuda.

Ao **Prof. Dr. José Machado Moita Neto**, pelo auxílio na análise e interpretação dos dados estatísticos.

A todos que direta ou indiretamente sempre estiveram comigo, me apoiando e incentivando na construção desse trabalho, o meu muito obrigada.

RESUMO

BARROS, S. E. de L. **Concentração de Selênio e Selenoproteínas e sua Relação com o Estresse Oxidativo em Pacientes com Doença de Crohn**. 2016. 67p. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Ciências e Saúde, Universidade Federal do Piauí, Teresina – PI.

INTRODUÇÃO: A Doença de Crohn (DC) caracteriza-se por uma inflamação crônica que pode comprometer qualquer segmento do aparelho digestivo, agredindo a mucosa de forma transmural e descontínua. Diversos fatores estão envolvidos na patogênese dessa doença, como a própria inflamação e o desequilíbrio entre a produção de espécies reativas de oxigênio (EROs) e o sistema de defesa antioxidante. Nesse contexto, o selênio (Se) tem papel importante por integrar o sistema antioxidante. Este trabalho avaliou as concentrações de Se e selenoproteínas e sua relação com o estresse oxidativo em pacientes com DC.

METODOLOGIA: Estudo do tipo caso-controle, com 72 participantes de ambos os sexos, na faixa etária entre 20 e 59 anos, categorizados em três grupos: GI (pacientes com DC em atividade, n=20), GII (pacientes com DC em remissão, n=27) e GIII (grupo controle (sem DC), n=25). Os pacientes eram assistidos no Hospital Universitário da Universidade Federal do Piauí. A ingestão dietética de Se foi investigada por meio de registro alimentar de três dias, analisados pelo *software* “Nutwin”, versão 1.5. As concentrações plasmáticas e eritrocitárias do mineral foram determinadas por espectrometria de emissão atômica óptica (ICP OES). A Selenoproteína P (SepP) foi quantificada usando o método ELISA do tipo sanduíche, conforme kit específico. A atividade da enzima glutationa peroxidase eritrocitária (GPx1) foi avaliada em analisador bioquímico automático, de acordo com kit comercial. A determinação do marcador de peroxidação lipídica foi realizada a partir da produção de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS). Realizou-se a análise estatística no *software* SPSS for Windows versão 20.0, adotando-se o nível de significância de 5%. **RESULTADOS:** As médias da ingestão dietética do Se estavam adequadas, de acordo com a EAR (Estimated Average Requirement) (45 µg/dia), e significativamente menores em relação ao grupo controle. As concentrações de Se plasmático estavam reduzidas nos pacientes com DC, como também inferiores ao valor de referência, com diferença estatística entre os grupos. Os valores médios de Se eritrocitário mostraram adequação nas concentrações do mineral, conforme valor de referência, apresentando-se significativamente mais reduzidos nos grupos com a doença. As concentrações de SepP foram menores nos pacientes em atividade da doença em relação ao grupo controle, com diferença significativa. A atividade da GPx1 mostrou-se elevada nos grupos com a doença, sem diferença estatística entre eles, porém com diferença ao compará-la com o grupo controle. As concentrações de TBARS foram significativamente mais elevadas nos pacientes em atividade da doença. **CONCLUSÃO:** Os pacientes com DC apresentam comprometimento no estado nutricional relativo ao Se, condição reafirmada pela SepP, como biomarcador desse mineral. A elevada atividade da GPx1 caracteriza o estresse oxidativo frente ao aumento da peroxidação lipídica independente do grau inflamatório da doença.

PALAVRAS-CHAVE: Selênio. Doença de Crohn. Estresse Oxidativo.

ABSTRACT

BARROS, S. E. de L. **Concentration of selenium and Selenoproteins and its Relationship with Oxidative Stress in Patients with Crohn's Disease.** 2016. 67p. Thesis (Master) - Master's Program in Health Sciences, Federal University of Piauí, Teresina - PI.

INTRODUCTION: Crohn's disease (CD) is characterized by chronic inflammation that may affect any part of the digestive system, attacking the lining of transmural and discontinuously. Several factors are involved in the pathogenesis of this disease, such as inflammation itself and the imbalance between the production of reactive oxygen species (ROS) and the antioxidant defense system. In this context, the selenium (Se) has an important role to integrate the antioxidant system. **METHODS:** A case-control study with 72 participants of both sexes, aged between 20 and 59 years, categorized into three groups: GI (CD patients in activity, n = 20), GII (patients with CD remission, n = 27) and GIII (control group (no CD), n = 25). The patients were assisted at the University Hospital of the Federal University of Piauí. Dietary intake of Se was investigated by a three days food report, analyzed by software "Nutwin" version 1.5.1.1. The erythrocyte and plasma concentrations of the mineral were determined by the optical atomic emission spectrometry (ICP OES). The Selenoprotein P (SepP) was quantitated using sandwich enzyme immunoassay technique, as specific kit. The activity of glutathione peroxidase erythrocyte enzyme (GPx) was assessed in automatic biochemical analyzer in accordance with a commercial kit. The determination of lipid peroxidation marker was made from the production of reactive substances to thiobarbituric acid (TBARS). Statistical analysis was performed using SPSS for Windows version 20.0, adopting the significance level of 5%. **RESULTS:** The mean intake of the selenium were adequate, according to the EAR (Estimated Average Requirement) (45 mg / day), and significantly lower than the control group. The selenium plasma concentrations were reduced in patients with CD, as also below the reference value, with statistical difference between the groups. The average values of erythrocyte selenium showed adequacy in concentrations of the mineral as the reference value, performing significantly lower in the group with disease. The SepP concentrations were lower in patients in disease activity compared to the control group, with significant difference. The GPx activity was high in groups with the disease, with no statistical difference between them, but with a difference when comparing it with the control group. The TBARS concentrations were significantly higher in patients in disease activity. **CONCLUSION:** Patients with CD have impaired of the nutritional status of the selenium, condition reaffirmed by SEPP, as a biomarker of this mineral. The high activity of GPx characterize oxidative stress due to increased lipid peroxidation, independent of the degree of inflammatory disease

Keywords: Selenium. Crohn's disease. Oxidative Stress

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Metabolismo do selênio.....	19
Figura 2 – Síntese de selenoproteínas.....	20
Figura 3 - Transporte do selênio pela Selenoproteína P.....	22
Figura 4 – Selênio e estresse oxidativo.....	23
Figura 5 – Fluxograma do desenho amostral.....	26
Figura 6 – Atividades realizadas com os participantes do estudo.....	28
Figura 7 - Distribuição percentual dos pacientes com doença de Crohn e controles segundo os valores de referência da ingestão de Se. Teresina-PI, Brasil, 2016.....	38
Figura 8 - Atividade enzimática da GPx1 dos pacientes com doença de Crohn e controles. Teresina-PI, Brasil, 2016.....	39
Figura 9 - Concentrações plasmáticas de TBARS dos pacientes com doença de Crohn e controles. Teresina-PI, Brasil, 2016.....	39
Figura 10 – Correlação linear de Pearson entre as concentrações de PCR e SepP dos pacientes com doença de Crohn. Teresina-PI, Brasil, 2016.....	41
Figura 11 – Correlação linear de Pearson entre as concentrações de SepP e albumina dos pacientes com doença de Crohn na fase ativa. Teresina-PI, Brasil, 2016.....	41
Figura 12 – Correlação linear de Pearson entre as concentrações de PCR e albumina dos pacientes com doença de Crohn na fase ativa. Teresina-PI, Brasil, 2016.....	41
Quadro 1 - Índice de Atividade da Doença de Crohn (IADC).....	27

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Características gerais dos pacientes com doença de Crohn e controles. Teresina-PI, Brasil, 2016.....	36
Tabela 2. Concentrações de albumina e PCR dos pacientes com doença de Crohn. Teresina-PI, Brasil, 2016.....	37
Tabela 3. Valores médios e desvios padrão da ingestão de energia, macronutrientes e selênio dos pacientes com doença de Crohn e controles. Teresina-PI, Brasil, 2016.....	37
Tabela 4. Valores médios e desvios padrão do selênio plasmático, selênio eritrocitário e SepP dos pacientes com doença de Crohn e controles. Teresina-PI, Brasil, 2016.....	38
Tabela 5 - Análise de correlação linear simples entre os biomarcadores do estado nutricional do selênio com o marcador da peroxidação lipídica nos pacientes com doença de Crohn e controles. Teresina-PI, Brasil, 2016.....	40
Tabela 6 – Análise univariada dos fatores associados à doença de Crohn. Teresina – PI, Brasil, 2016.....	42
Tabela 7 – Análise univariada dos fatores associados às concentrações de TBARS. Teresina – PI, Brasil, 2016.....	42

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ApoER2 - Apolipoproteína E
CAT – Catalase
DC - Doença de Crohn
DII - Doença Inflamatória Intestinal
DNA – Ácido desoxirribonucleico
DP – Desvio Padrão
DRI – Ingestão dietética de referência
EAR – Necessidade média estimada
EDTA – Ácido etileno diamino tetracético
eEFSec - Fator de elongação de Selenocisteína
EROs - Espécies Reativas de Oxigênio
ERNs – Espécies Reativas de Nitrogênio
GPx - Glutathione Peroxidase
Hb – Hemoglobina
HU - Hospital Universitário
H₂O₂ - Peróxido de Hidrogênio
IADC - Índice de Atividade da Doença de Crohn
IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IFN- γ - Interferon - gama
IL- Interleucina
IOM - Institute of Medicine
LANEX - Laboratório de Nutrição Experimental
MDA - Malondialdeído
NF- κ B - Fator de transcrição nuclear kappa-beta
O₂ - Superóxido
OH - Hidroxila
ON- Óxido nítrico
OR - Odds Ratio
RU - Retocolite Ulcerativa
Se – Selênio
Sec - Selenocisteína
SeMet - Selenometionina
SepP – Selenoproteína P

SPSS – *Statistical Package for the Social Sciences*

TACO – Tabela Brasileira de Composição de Alimentos

TBARS - Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico

TCLE - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

TNF - Fator de necrose tumoral

tRNA^{sec} - RNA transportador de Inserção de Selenocisteína

UFPI - Universidade Federal do Piauí

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	14
2 REFERENCIAL BIBLIOGRÁFICO	15
2.1 Doença de Crohn: aspectos clínicos, etiológico e epidemiológicos.....	15
2.2 Doença de Crohn e estresse oxidativo.....	16
2.3 Selênio: aspectos metabólicos e fisiológicos.....	17
2.4 Doença de Crohn, estresse oxidativo e selênio.....	22
3 OBJETIVOS	245
3.1 Objetivo Geral	25
3.2 Objetivos Específicos.....	25
4 METODOLOGIA	26
4.1 Caracterização do Estudo e Protocolo Experimental.....	26
4.2 Avaliação do Consumo Alimentar.....	288
4.3 Avaliação dos Parâmetros Bioquímicos.....	30
4.3.1 <i>Coleta do Material Biológico</i>	30
4.3.2 <i>Separação dos Componentes do Sangue</i>	30
4.3.3 <i>Controle de contaminação e preparo dos reagentes.</i>	31
4.3.4 <i>Determinação do Selênio plasmático e eritrocitário</i>	311
4.3.4.1 <i>Determinação da Hemoglobina</i>	32
4.3.5 <i>Concentração plasmática da Selenoproteína P</i>	33
4.3.6 <i>Atividade da Glutathione Peroxidase</i>	333
4.3.7 <i>Determinação de Malondialdeído</i>	34
4.4 Análise Estatística	34
4.5 Aspectos Éticos	35
5 RESULTADOS	36
6 DISCUSSÃO	43
7 CONCLUSÃO	48
REFERÊNCIAS	49
APÊNDICE A - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO	57
APÊNDICE B - FORMULÁRIO DE IDENTIFICAÇÃO	60
APÊNDICE C - REGISTRO ALIMENTAR	62
ANEXO A -.....	64
ANEXO B -.....	67

1 INTRODUÇÃO

As Doenças Inflamatórias Intestinais (DII) representam uma condição crônica idiopática que promove disfunção do trato gastrointestinal e, com base em critérios clínicos, histológicos e radiológicos, podem ser categorizadas em dois subtipos principais: Retocolite Ulcerativa (RU) e Doença de Crohn (DC). A DC é caracterizada por múltiplas agudizações e remissões, provocando diarreia crônica, dor abdominal, sangramento retal e desnutrição (GENTSCHEW et al., 2012), cuja etiologia envolve a interação entre fatores genéticos, imunológicos e ambientais, que prejudicam a homeostase intestinal e promovem desequilíbrio da resposta imunológica do paciente e o desenvolvimento da inflamação crônica (ALZOGHAIBI, 2013).

No Brasil, estudos epidemiológicos sobre DIIs ainda são escassos, devido as dificuldades no diagnóstico e estudos com amostras populacionais reduzidas. Embora, estudos com pacientes sob acompanhamento em ambulatório, mostrem aumento das frequências de consultas ambulatoriais e internações de pacientes com DIIs em grandes metrópoles brasileiras (ELIA et al., 2007; KLEINUBING et al., 2011).

Na mucosa inflamada ocorre infiltração de neutrófilos que produzem espécies reativas de oxigênio (EROs) e de nitrogênio (ERNs), favorecendo a ocorrência de estresse oxidativo (MAOR et al., 2008). Sobre este aspecto, destaca-se a atuação do selênio (Se) como nutriente antioxidante. Esse mineral reduz a inflamação crônica neutralizando o excesso de EROs e, exerce efeito modulador em estados inflamatórios e imunológicos alterados (VOLP et al., 2010).

O quadro clínico da DC pode comprometer o *status* de alguns nutrientes, principalmente elementos traços, como o Se, que estão presentes em pequenas concentrações e apresentam-se depletados nas fases ativa e de remissão da DC (ANJALI et al., 2015). A deficiência desse mineral pode contribuir para a manifestação da inflamação, aumentando a suscetibilidade ao dano oxidativo por comprometer a síntese de selenoproteínas com ação antioxidante, como a Glutathiona Peroxidase (GPx) e a Selenoproteína P (SepP) (KAUSHAL et al., 2011; SHAMIR, 2009).

Considerando os aspectos clínicos e metabólicos apresentados, relacionados à DC, a presença de estresse oxidativo nos pacientes, bem como a atuação do Se como nutriente antioxidante, julga-se importante a realização deste estudo, com vistas ao melhor entendimento acerca do papel desse mineral na proteção contra os danos causados pelo estresse oxidativo.

2 REFERENCIAL BIBLIOGRÁFICO

2.1 Doença de Crohn: aspectos epidemiológicos, etiológicos e clínicos

A Doença de Crohn (DC) pode comprometer qualquer segmento do aparelho digestivo, desde a boca até o ânus, mas principalmente o íleo e o cólon, agredindo a mucosa de forma transmural e descontínua (BAUMGART e SANDBORN, 2012; ELIAKIM et al., 2012). A quantidade de pacientes acometidos por essa doença cresce exponencialmente a cada ano, sobretudo, nos países desenvolvidos. O Brasil, apesar de não ser caracterizado como um país desenvolvido, pode ser incluído no grupo de risco, apresentando crescente incidência (ALZOGHAIBI, 2013; SOUZA et al., 2011).

Sobre os dados epidemiológicos, estudo realizado no Estado de São Paulo, revelou incidência de 3,50 casos/100.000 habitantes; com prevalência de 5,65 casos/100.000 habitantes totais para DIIs (VICTORIA; SASSAKI; NUNES, 2009). Estes resultados, se assemelharam com os encontrados em outros países da América Latina. No estado do Piauí, verificou-se para as DIIs, incidência de 1,53 casos/100.000 habitantes/ano, e prevalência de 12,8 casos/100.000 habitantes em 2012, no Hospital Universitário (HU) da Universidade Federal do Piauí (UFPI) (PARENTE et al., 2015).

Apesar da etiologia da DC ainda ser desconhecida, alguns fatores de riscos podem contribuir para o seu surgimento, tais como: menor taxa de amamentação, adoção de estilo de vida sedentário, exposição à poluição do ar, consumo de excessivas quantidades de açúcar e gorduras poliinsaturadas, e tabagismo (BAUMGART; SANDBORN, 2012). As faixas etárias entre 15 e 20 anos e de 55 a 60 anos caracterizam o pico de acometimento da DC, o que não a impede de surgir em outros estágios da vida (ALZOGHAIBI, 2013).

Diversos fatores estão envolvidos na patogênese da DC, a exemplo da resposta imune inata e adaptativa desregulada; aumento da produção de mediadores inflamatórios não-específicos, como: citocinas, quimiocinas, prostaglandinas e leucotrienos; rompimento da função de barreira da mucosa intestinal, elevada produção de EROs e ERNs, além de outros mecanismos que, por si só, não podem ser identificados como evento causador, mas representam informações valiosas sobre sua fisiopatologia (CORMAN, 2012; GOYAL et al., 2014;

PODOLSKY, 2002).

O diagnóstico da DC se dá por meio de investigação baseada na combinação de dados clínicos, laboratoriais, endoscópicos, histológicos e de imagem do paciente; minimizando equivocados subdiagnósticos (SOUZA et al., 2011). Seus principais sintomas são: diarreia, dor abdominal e perda de peso (FLORA; DICHI, 2006).

O tratamento clínico é feito com aminossalicilatos, corticóides, antibióticos e imunossupressores, tendo como objetivo a diminuição de sintomas agudos e a manutenção da doença em remissão. A cirurgia pode ser necessária no tratamento clínico, no entanto, essa doença não é cirurgicamente curável, com ciclo de vida marcado por agudizações e remissões. A diferenciação entre essas duas fases da doença pode ser feita com base no índice de atividade da doença de Crohn (IADC), considerado padrão ouro (BRASIL, 2002).

2.2 Doença de Crohn e Estresse Oxidativo

A inflamação está diretamente relacionada com a formação de intermediários pró-oxidantes. Segundo Ioannidis et al. (2011), o aumento de subprodutos da peroxidação lipídica, como as Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico (TBARS), tem relação positiva na aceleração e manutenção do processo inflamatório, o que evidencia a relação entre o estresse oxidativo e a DC. Dessa forma, o estresse oxidativo tem sido proposto como um mecanismo subjacente à fisiopatologia da DC (ALZOGHAIBI, 2013). As células reagem ao estresse oxidativo por mecanismos que englobam a produção de agentes antioxidantes. Essa condição sistêmica é geralmente definida como um desequilíbrio entre os sistemas pró-oxidantes e antioxidantes, caracterizada pelo aumento de EROs e de ERNs (YAMAMOTO; CHIBA; MATSUMOTO, 2015).

Destaca-se que o trato gastrointestinal é uma das principais fontes de produção de EROs, pois, apesar da barreira de proteção exercida pela camada epitelial, materiais e agentes patogênicos ingeridos podem causar inflamação por ativar o sistema imune inato (neutrófilos polimorfonucleares e macrófagos), que produzem citocinas inflamatórias e outros mediadores contribuindo para a progressão do estresse oxidativo (BHATTACHARYYA et al., 2014). Dessa forma, a principal característica patológica na DC diz respeito à infiltração de neutrófilos e

macrófagos no intestino (ALZOGHAIBI, 2013). Estudos têm demonstrado em modelos animais com colite, relação entre a infiltração de neutrófilos e a gravidade da doença (MANGERICH et al., 2012).

A ativação das células do sistema imune inato resulta em aumento na liberação de oxigênio e nitrogênio, conseqüentemente na produção de potentes oxidantes como, os radicais superóxidos (O_2) e o óxido nítrico (ON). O radical superóxido por sua vez, pode formar ainda compostos altamente reativos ao reagir com o peróxido de hidrogênio (H_2O_2), formando o radical hidroxila (OH) ou, com o ON para produzir o peroxinitrito ($ONOO^-$) (KNUTSON et al., 2013; MORET et al., 2014).

Para manter a homeostase e integridade molecular, o organismo possui sistemas antioxidantes enzimáticos que incluem a GPx, SepP, catalase (CAT) e a superóxido dismutase (SOD), e não enzimáticos, a exemplo das vitaminas A, C e E, e dos minerais zinco, cobre e selênio (IBORRA et al., 2011). A SOD atua levando o radical superóxido (O_2) para outro caminho, catalisando a sua conversão para peróxido de hidrogênio, que posteriormente pode ser reduzido à água por meio da GPx. A SepP, por sua vez pode reduzir peroxinitritos e hidroperóxidos de fosfolípidios (ALMONDES et al., 2010; ALZOGHAIBI et al., 2013).

Estes mesmos autores afirmam que, as concentrações destes antioxidantes disponíveis no interior das células e no meio extracelular devem ser suficientes para manter a fisiologia normal visto que, se as concentrações de radicais livres forem maiores que a capacidade de defesa do organismo, resultará em dano oxidativo. Desse modo, pessoas com menor capacidade antioxidante, apresentam maiores chances de desenvolver doenças inflamatórias intestinais quando expostas ao estresse oxidativo.

2.3 Selênio: aspectos metabólicos e fisiológicos

O selênio foi descoberto em 1817 pelo químico Berzelius. Reconhecido anteriormente apenas por seus efeitos tóxicos, somente em 1957, Schwarz e Foltz demonstraram uma possível funcionalidade para prevenção de necrose hepática em ratos. Anos depois, elucidou-se seu envolvimento na Doença de Keshan, cardiomiopatia fatal que surgia na deficiência (ALISSA; BAHIJRI; FERNS, 2003).

Atualmente, sabe-se do envolvimento do Se na prevenção e tratamento de

vários outros processos fisiológicos, incluindo doenças neuromusculares, função da tireóide, fertilidade masculina, função imunológica e inibição da expressão viral, no caso da AIDS (LABUNSKYY; HATFIELD; GLADYSHEV, 2014).

O Se pode apresentar-se sob dois tipos de espécies químicas: inorgânica e orgânica. Na forma inorgânica, é encontrado como Selenito e Selenato, principalmente em suplementos alimentares. Na forma orgânica, por sua vez, é encontrado como Selenocisteína (Sec), em alimentos de origem animal; Selenometionina (SeMet), presente em alimentos de origem vegetal, e como Selenometilselenocisteína, principal composto de Se encontrado em certos vegetais acumuladores do mineral (FAIRWEATHER-TAIT; COLLINGS; HURST, 2010; MEHDI et al., 2013; RAYMAN, 2012).

Segundo o Institute of Medicine (IOM, 2000), a castanha do Brasil é considerada o alimento mais abundante em Se, contudo, não é frequentemente ingerida pela população brasileira. O teor de Se na castanha do Brasil depende de algumas variáveis, como: o peso da castanha e o conteúdo do mineral no solo, que oscila de acordo com a região geográfica (ALISSA; BAHIJRI; FERNS, 2003; RAYMAN, 2012).

Alimentos proteicos como: carne bovina, fígado, rim, frango, peixe, ovos, leite e derivados, também apresentam quantidades importantes de Se e em muitos países são a principal fonte alimentar do mineral, apresentando uma variação entre 20-50% de biodisponibilidade para este nutriente. Os frutos do mar, cereais e o levedo de cerveja são também uma boa fonte de Se, cuja biodisponibilidade pode chegar a mais de 80%. Outras fontes desse nutriente são os vegetais dos gêneros *Brassica* (brócolis, couve de Bruxelas, couve-flor, couve, repolho, mostarda) e *Allium* (alho, cebola, cebolinha) (COMINETTI et al., 2011; DRUTEL; ARCHAMBEAUD; CARON, 2013; FAIRWEATHER-TAIT; COLLINGS; HURST, 2010).

Alguns fatores podem influenciar a biodisponibilidade do Se, facilitando a sua absorção, como: metionina, proteínas, vitaminas E e A. Outros fatores podem inibir a sua biodisponibilidade, são eles: chumbo, cádmio, enxofre, arsênio, mercúrio, cálcio e o ferro férrico (COMINETTI et al., 2011; MEHDI et al., 2013).

Um aspecto importante a ser destacado diz respeito à recomendação da ingestão de Se (55 µg/dia) ser muito próxima da recomendação relativa ao limite máximo tolerado (400 µg/dia). Dependendo da quantidade ingerida do mineral podem ocorrer sintomas de deficiência, bem como de toxicidade (IOM, 2000).

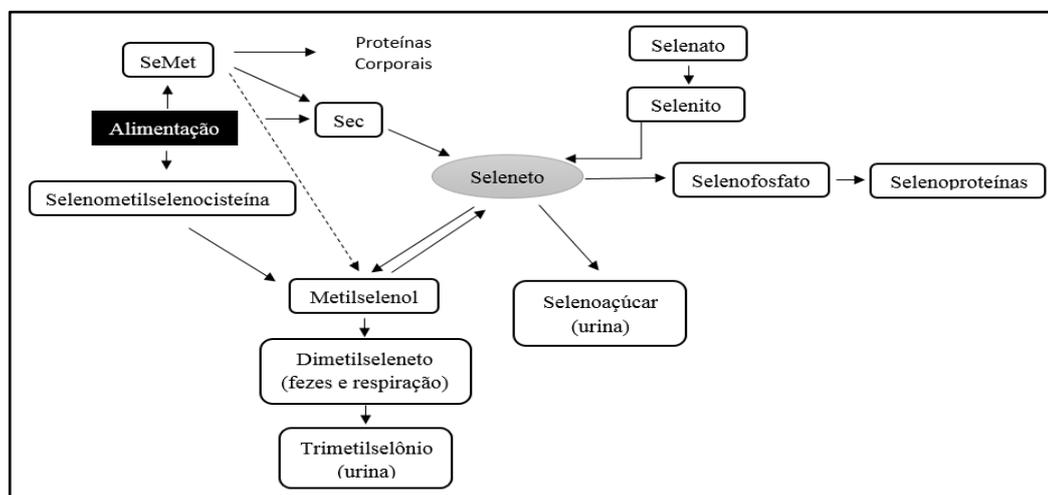
Uma das primeiras descobertas relacionadas a deficiência de Se, ou selenopenia, foi a sua relação com o desenvolvimento da doença de Keshan, uma cardiomiopatia endêmica de algumas áreas da China caracterizada por insuficiência cardíaca fulminante (ANDOH et al., 2005). Outra enfermidade associada a deficiência do mineral é a doença Kashin-Beck, uma desordem óssea que ocorre em adolescentes (IOM, 2000). A Selenopenia também danifica o endotélio vascular e desregula os sistemas antioxidantes celulares, podendo estar relacionada à incidência do câncer de cólon em humanos (ALMONDES et al., 2010).

Por outro lado, dosagens acima do recomendado podem culminar no surgimento dos sintomas de selenose, como: distúrbios gastrointestinais e do sistema nervoso, halitose, fadiga, irritabilidade, irritação da pele, perda de cabelo e descoloração das unhas. Essa condição pode perdurar por mais de 90 dias (DRUTEL; ARCHAMBEAUD; CARON, 2013; DUNTAS, 2010).

Além disso, estudos têm mostrado que concentrações de Se acima da quantidade necessária para a síntese máxima de selenoproteínas, promovem efeito contrário em relação ao seu papel antioxidante na proteção contra os radicais livres. por aumentarem os ciclos redox com tióis intracelulares, levando ao estresse oxidativo e danificando os componentes celulares (PAPP et al., 2007; RAYMAN et al., 2012; STRANGES et al., 2007).

Quanto ao seu metabolismo, o Se é absorvido no segmento superior do intestino delgado e reduzido a Seleneto nos enterócitos (SPECKMANN e STEINBRENNER, 2014). Esse processo ocorre para diferentes formas desse nutriente, como apresentado na Figura 1.

Figura 1 - Metabolismo do selênio



FONTE: Adaptado- Fairweather-Tait et. al. (2011)

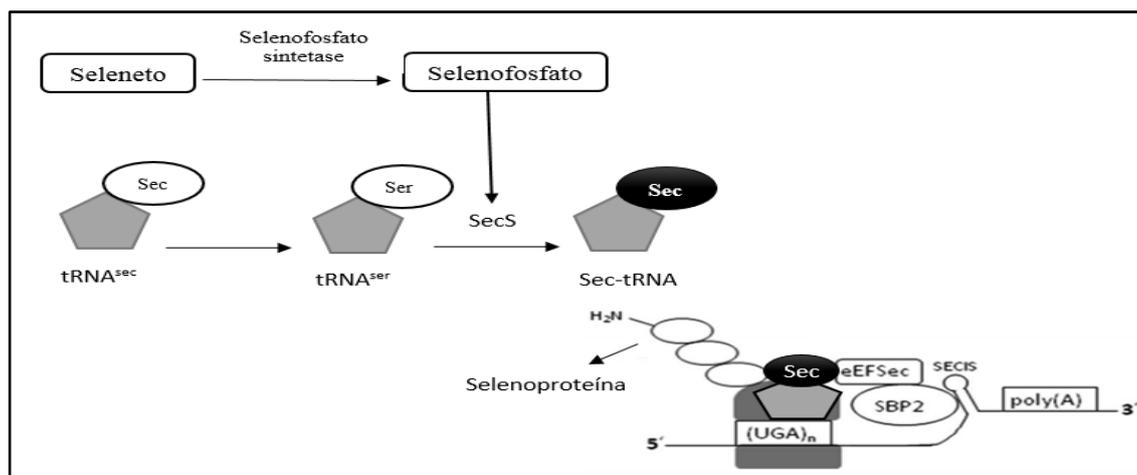
Os compostos de Se orgânicos e inorgânicos são convertidos metabolicamente em Seleneto. No caso da SeMet, esse processo dar-se inicialmente pela sua transformação em Sec, e na sequência, a produção de Seleneto. É importante salientar que a SeMet é incorporada de forma não específica em proteínas corporais e pode ser submetida a produção de Metilselenol, que é desmetilado em Seleneto, este por sua vez, é metabolizado em Selenofosfato, fator determinante para a síntese das selenoproteínas (COMINETTI et al., 2011; FAIRWEATHER-TAIT et. al., 2011).

O seleneto também é um metabólito intermediário para a excreção de Se. Em níveis mais baixos de ingestão, pode ser excretado na urina na forma de selenoaçúcar. Porém, quando produzido em grandes quantidades, dá origem aos compostos dimetilseleneto e trimetilselênio, que são excretados na respiração, fezes ou urina (KRITTAPHOL et al., 2010; OHTA; SUZUKI, 2008).

São várias as formas utilizadas para avaliar a biodisponibilidade do Se. Quando analisado no eritrócito, cabelo e unhas, é refletido o seu estado a longo prazo. Por outro lado, a medida desse nutriente no plasma e na urina reflete o estado do Se a curto prazo. Com relação aos marcadores bioquímicos relativos ao Se, não há consenso quanto aos valores de referência de normalidade. Esse fato decorre das diferentes quantidades de Se no solo, o que leva à variação do estado nutricional do mineral da população. Outra forma é medir a atividade ou concentração das selenoproteínas (ANDOH et al., 2005; FAIRWEATHER-TAIT et. al., 2011).

O efeito protetor do selênio dar-se pela ação das selenoproteínas, cuja síntese tem início a partir do processo da aminoacilação do RNA transportador de Inserção de Selenocisteína (tRNA^{sec}) ao resíduo Serina. Este último, reage com o Selenofosfato, por meio da Selenocisteína Sintase (SecS), para produzir o RNA transportador de Selenocisteína (Sec-tRNA). Após essa etapa, a Sequência de Inserção da Selenocisteína (SECIS) identifica o códon correspondentes à Sec, facilitando a sua incorporação ao fator de alongação de Selenocisteína (eEFSec), onde, finalmente, a Selenoproteína é sintetizada, conforme figura abaixo (CASSAGO, 2010; LABUNSKYY; HATFIELD; GLADYSHEV, 2014).

Figura 2- Síntese das selenoproteínas



FONTE: Adaptado – Speckmann; Steinbrenner, (2014)

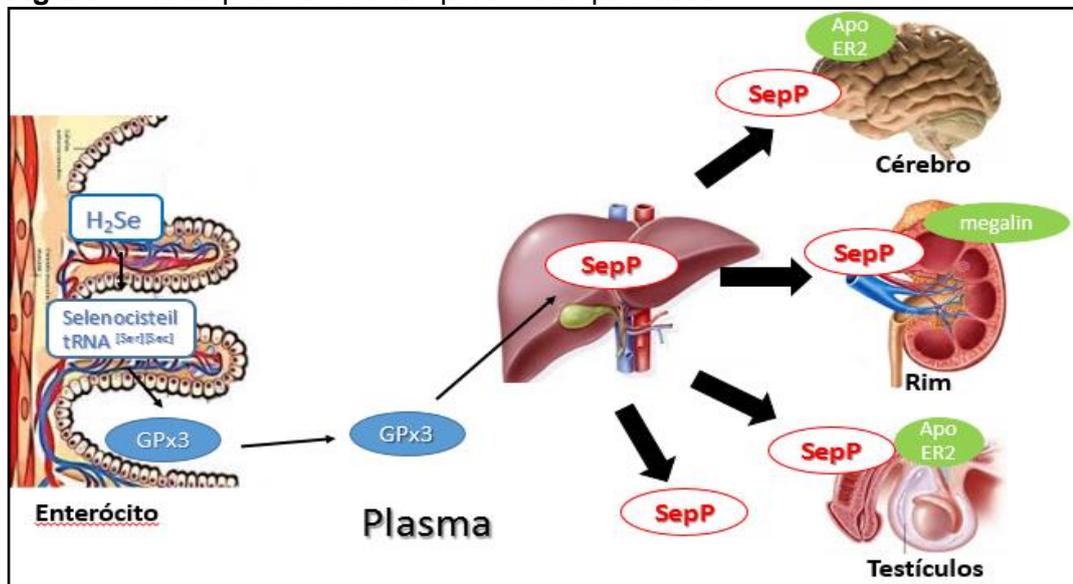
Cerca de 25 selenoproteínas já foram identificadas de acordo com sua função no organismo. De modo geral, além de estarem envolvidas nos processos de proteção antioxidante, também participam do metabolismo dos hormônios tireoidianos e da síntese de DNA e proteínas. As selenoproteínas são classificadas como: tioredoxinas redutases; iodotironinas desiodases; glutatona peroxidases; metionina sulfóxido redutase B e SepP. Estas três últimas são caracterizadas por exercerem importante função antioxidante (BURK; HILL; MOTLEY, 2003; FERREIRA, 2010).

A biossíntese e atividade das glutatona peroxidases, assim como as demais selenoproteínas, são dependentes de Se. A GPx3 é altamente responsiva à disponibilidade desse mineral, sendo então um bom marcador, pois suas concentrações no plasma caem à medida que aumenta a gravidade da deficiência (BURK; HILL, 2009; COMINETTI et al., 2011).

Contudo, a GPx3 representa menos de 20% do selênio plasmático, possuindo apenas um resíduo de Sec por molécula; enquanto, a SepP transporta mais do que 60% desse mineral no plasma, contendo até 10 resíduos de Sec por molécula (ANDOH et al., 2005). Em relação ao total de selênio plasmático contido nas selenoproteínas, que é de aproximadamente 8 mg/dl, a SepP contém 6-7 mg/dl, ao passo que a GPx contém 1-2 mg/dl (BURK; HILL; MOTLEY, 2003). Outro aspecto importante, é que a meia-vida da SepP no plasma é de 3-4 h, enquanto que a da GPx é de 12h, assim sugere-se que a síntese e turnover da SepP in vivo é rápida e eficiente (SHETTY; SHAH; COPELAND, 2014). Deste modo, estudos recentes trazem a SepP como o biomarcador mais sensível ao estado nutricional do selênio (DRUTEL; ARCHAMBEAUD; CARON, 2013; SHETTY; SHAH; COPELAND, 2014).

A SepP pode ser dividida nos domínios N-terminal e C-Terminal, e sua função é fornecer Se para os órgãos do corpo, sendo expressa em níveis mais altos no fígado, intestino e rins (ALMONDES et al., 2010). Existem vários receptores, como a apolipoproteína E (ApoER2) e o Megalin, que implicam na captação específica da SepP, otimizando-a em baixas concentrações de selênio. A ApoER2 se liga a SepP e facilita a sua absorção para os testículos e o cérebro. O Megalin, por sua vez, regula a absorção de SepP pelo túbulo proximal do rim, como apresentado na figura 3 (LABUNSKYY; HATFIELD; GLADYSHEV, 2014; XIA et al., 2010).

Figura 3 - Transporte do selênio pela selenoproteína P



FONTE: Adaptado - Fairweather-Tait et al., (2012)

2.4 Doença de Crohn, Estresse Oxidativo e Selênio

Pacientes com DC são submetidos a um risco elevado de desenvolver estresse oxidativo e a um comprometimento do sistema de defesa antioxidante da mucosa intestinal, com redução nas concentrações de enzimas e nutrientes antioxidantes, dentre eles o Se (SHAGHAGHI et al., 2014).

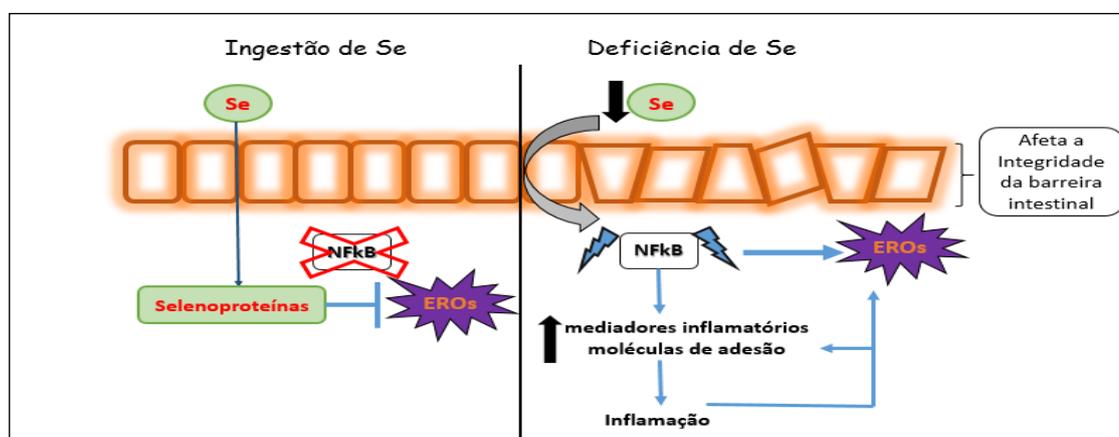
A deficiência de Se pode comprometer a síntese e função de selenoproteínas, e prejudicar a capacidade antioxidante, agindo diretamente sobre o agente oxidante ou indiretamente no centro ativo da enzima antioxidante (TINGII, 2008) E ainda, o déficit desse mineral está diretamente relacionado com algumas vias envolvidas na

inflamação e no estresse oxidativo, como a regulação da função de macrófagos. Os macrófagos estão divididos em dois grupos: macrófagos tipo 1 (M1) e macrófagos tipo 2 (M2). Os M1 são pró-inflamatórios, produtores de EROs, ativados por: interferon gama (IFN- γ), fator de necrose tumoral (TNF), dentre outros fatores estimulantes. Já os M2 são antiinflamatórios, aumentam a expressão de arginase-1, entre outros fatores que competem com a L-arginina (substrato para a síntese de óxido nítrico), para produzir L-ornitina e uréia em vez de óxido nítrico, e são ativados por: IL-4, IL-13, e IL-10 (KUDVA; SHAY; PRABHU, 2015).

Kaushal et al. (2014) realizaram um estudo de suplementação com 0,4 partes por milhão (ppm) de selenito de sódio em ratos deficientes em selênio tratados com dextran sulfato de sódio (DSS). Observaram uma supressão de marcadores de M1 e uma alta regulação de marcadores de M2, como a IL-10. Portanto, estudos como esse revelam que a suplementação de selênio aumenta a polarização de macrófagos tipo 1 para macrófagos tipo 2, diminuindo a inflamação.

Dessa forma, a ingestão dietética adequada de Se pode reduzir o risco de doenças crônicas associadas ao estresse oxidativo e à inflamação inibindo a ativação de vias pró-inflamatórias. Pois, além da regulação dos macrófagos, esse mineral age por meio da quelação de radicais livres e, ainda bloqueia o fator de transcrição nuclear kappa-B (NF- κ B), que modula a produção de mediadores inflamatórios e moléculas de adesão. Além disso, a deficiência desse nutriente compromete a composição da microbiota intestinal e a integridade da barreira epitelial (VOLP et al., 2010) (Figura 4).

Figura 4 – Selênio e estresse oxidativo



Como mencionado, o Se pode exercer seu papel protetor por ação direta ou por meio de selenoproteínas dependentes desse mineral (FAIRWEATHER-TAIT et

al., 2011). Dessa forma, a redução na expressão/atividade das selenoproteínas promove aumento na produção de EROs e acúmulo de moléculas oxidadas, prejudicando a homeostase celular (TOUAT-HAMICI et al., 2014). No entanto, mesmo que haja crescentes evidências sobre a importância do sistema antioxidante na DC, os dados disponíveis sobre a atividade e/ou concentração das selenoproteínas nestes pacientes, ainda são escassos (PINTO et al., 2013).

Entre as selenoproteínas, a GPx e a SepP têm sido estudadas por seus efeito antioxidante e antiinflamatório. Sobre a SepP, estudos mostram que além de proteger contra o dano oxidativo, apresenta relação inversa de suas concentrações com o desenvolvimento de DIIs e câncer colorretal (ANDOH et al., 2005; SPECKMANN et al., 2010; STEINBRENNER; SPECKMANN, 2013).

A GPx pertence a uma família de enzimas que tem como função reduzir EROs, especificamente peróxido de hidrogênio e hidroperóxidos lipídicos. Existem quatro isoformas de glutathione peroxidase (GPx) presentes no intestino. A GPx1 e a GPx2 são reguladas por vias de estresse celular mediada por fatores de transcrição, tais como p53, fator nuclear Nrf-2 e p63, respectivamente. A GPx3 tem um potente papel supressor da tumorigênese. A GPx4 detoxifica hidroperóxidos lipídicos, prevenindo a oxidação e mantendo a integridade celular. Dessa forma, essa enzima pode reduzir a inflamação crônica no cólon e prevenir a tumorigênese (KUDVA; SHAY; PRABHU, 2015; SPECKMANN; STEINBRENNER, 2014).

Neste contexto, estudos experimentais com camundongos induzidos à DI, têm sugerido a presença de auto-regulação dos genes que codificam as selenoproteínas GPx1 e GPx2. Na ausência de um destes genes ocorre aumento na atividade do outro gene, como resposta compensatória de proteção contra os danos oxidativos. E, na ausência dos dois genes (GPx1 e GPX2), os camundongos apresentaram fenótipo de DIIs grave (ESWORTHY et al., 2001; FLORIAN et al., 2001; TE VELDE, 2008), reafirmando que a atividade e expressão das selenoproteínas antioxidantes estão associadas com o estresse oxidativo, sendo de grande importância na regulação do mesmo.

Desse modo, concentrações adequadas de selênio ajudam a neutralizar o excesso de EROS, bem como a peroxidação lipídica, inibindo a ativação da cascata de citocinas pró-inflamatórias e, conseqüentemente, previne o desenvolvimento da inflamação em indivíduos (COMINNETI et al., 2011).

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Analisar as concentrações de selênio e selenoproteína P e sua relação com o estresse oxidativo em pacientes com doença de Crohn.

3.2 Objetivos Específicos

- Estimar o consumo alimentar em relação a ingestão energética, de macronutrientes e selênio;
- Determinar as concentrações de Se plasmático, Se eritrocitário e SepP;
- Analisar a atividade da GPx1 e concentrações de TBARS;
- Verificar a relação entre as concentrações dos marcadores de selênio e de estresse oxidativo em pacientes com DC.

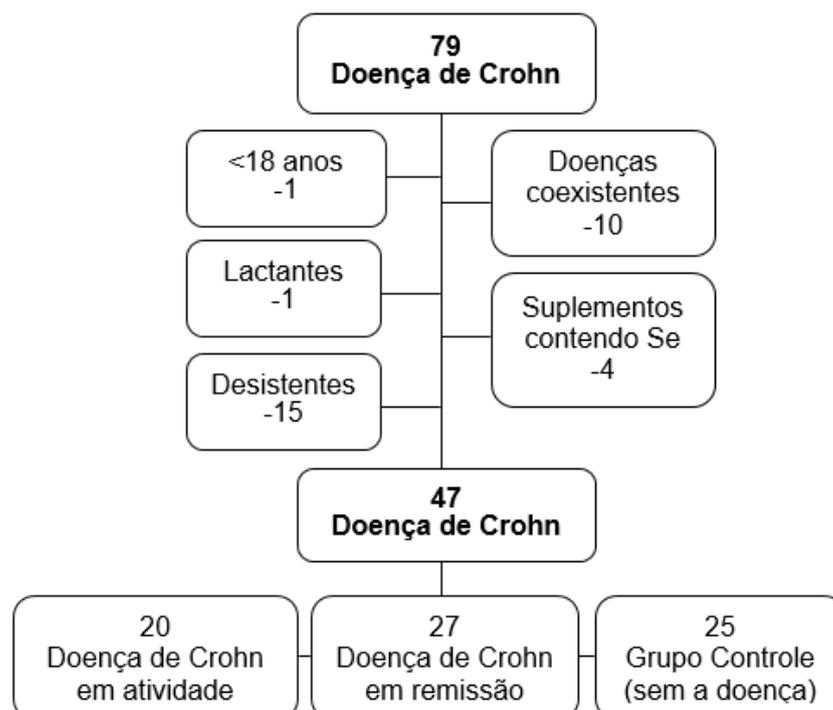
4 METODOLOGIA

4.1 Caracterização do Estudo e Protocolo Experimental

O estudo de natureza analítica, do tipo caso-controle, com amostra de conveniência, envolveu 72 participantes de ambos os sexos, na faixa etária entre 20 e 59 anos. Os participantes foram alocados em três grupos: GI (pacientes com DC em atividade, n=20), GII (pacientes com DC em remissão, n=27) e GIII (controle - sem DC, n=25). Estes foram recrutados de acordo com a demanda espontânea do HU da UFPI, no período de fevereiro a outubro de 2015.

Foram incluídos no estudo aqueles que não faziam uso de suplemento polivitamínicos e/ou medicamentos que pudessem interferir na avaliação do estado nutricional relativo ao selênio, que não possuíam doenças coexistentes como diabetes, disfunção hepática ou renal, distúrbios da tireóide, AIDS (Síndrome da Imunodeficiência Adquirida) e câncer. Não foram incluídas gestantes ou mulheres em lactação. O grupo controle foi constituído por indivíduos saudáveis, com características semelhantes ao grupo “caso” quanto: à faixa etária e gênero, seguindo os mesmos critérios de inclusão supracitados. O fluxograma apresentado na figura 5 ilustra o desenho amostral desse estudo.

Figura 5 – Fluxograma do desenho amostral



Fonte: Elaborado pela autora.

O diagnóstico de DC foi realizado por médico da instituição, conforme critérios clínicos, laboratoriais, achados endoscópicos e histopatológicos. A diferenciação entre doença ativa e período de remissão foi feita com base no índice de atividade da doença de Crohn (IADC), conforme apresentado no Quadro 1, que adota a seguinte classificação: doença em remissão: IADC < 150; atividade leve a moderada: IADC \geq 150 < 220; atividade moderada a grave: IADC \geq 220 < 450, e atividade grave ou fulminante: IADC \geq 450.

Quadro 1- Índice de Atividade da Doença de Crohn (IADC)

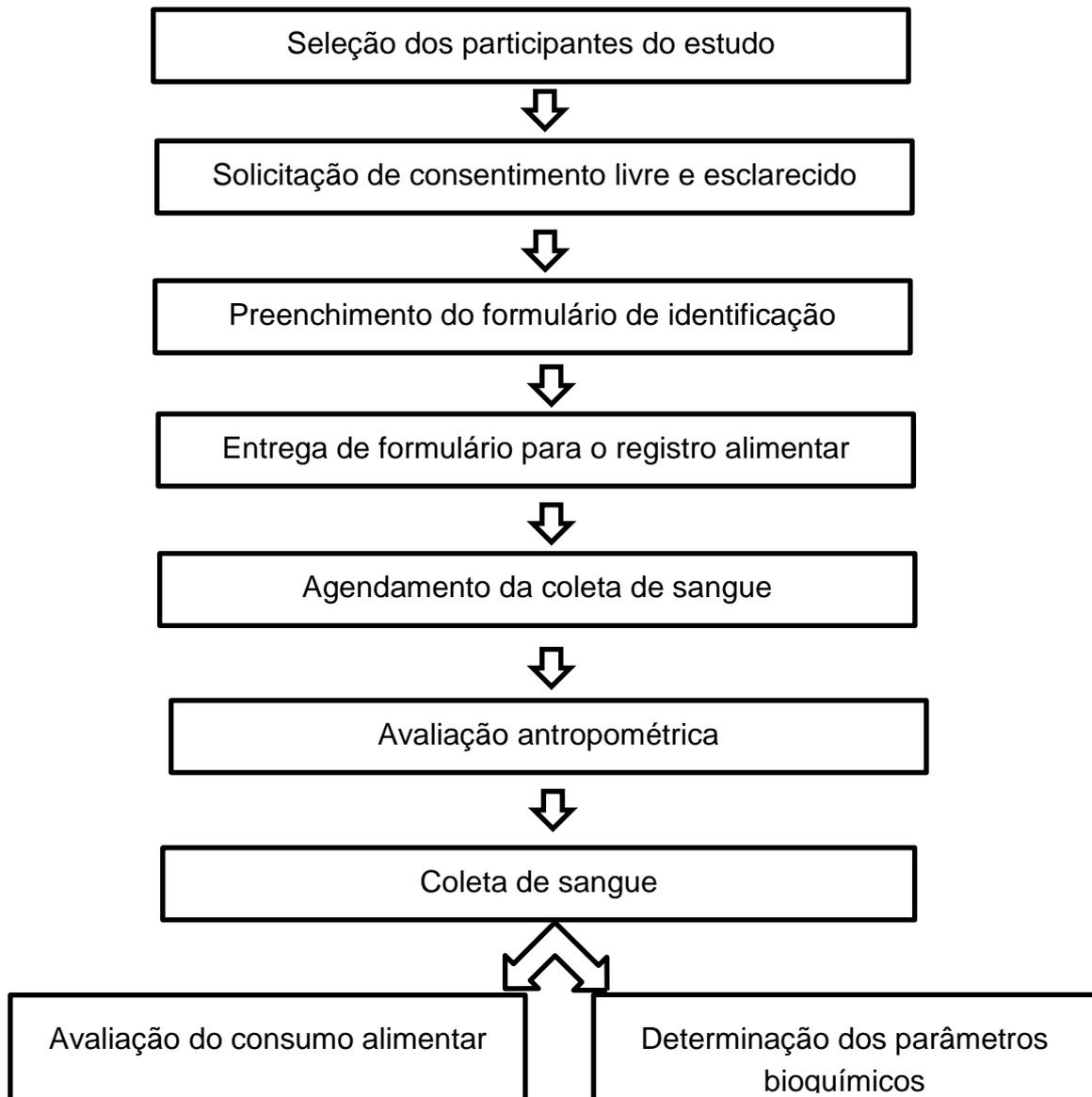
Variável	Fator Multiplicad.	Subtotal
Média do número de evacuações líquidas ou pastosas por dia nos últimos 7 dias.	x 2	
Dor abdominal (nenhuma = 0, leve = 1, moderada = 2, intensa = 3)	x 5	
Sensação de bem estar (bem = 0, desconfortável = 1, ruim = 2, péssimo = 3, terrível = 4)	x 7	
Número de complicações: (artrite/artralgia, irite/uveíte, eritema nodoso/pioderma gangrenoso ou estomatite aftosa, fissura/fístula ou abscesso anal, outras fístulas, febre > 37,8°C)	x 20	
Uso de difenoxilato ou loperamida (não = 0, sim = 1)	x 30	
Massa abdominal (não = 0, questionável = 1, com certeza = 5)	x 10	
Hematócrito (homens: 47 – Ht%, mulheres: 42 – Ht%)	x 6	
Peso (1 – peso / peso padrão x 100. Adicione ou subtraia segundo o sinal)	x 1	
Total do IADC		

Fonte: BRASIL, 2002

Durante o recrutamento, os participantes receberam informações detalhadas sobre a investigação com linguagem compreensiva e, após aceitar participar do estudo assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE), e descritivo do projeto (Apêndice A). Informações relativas aos dados socioeconômicos, à história clínica e estilo de vida foram referidas pelos participantes no momento da entrevista ou obtidas a partir do prontuário médico e registrados em formulário próprio (Apêndice B). Exames bioquímicos, como PCR e albumina, foram obtidas a partir do prontuário médico. Nesse mesmo momento foram entregues formulários para obtenção dos registros alimentares (Apêndice C), bem como agendadas as datas para coleta de sangue.

Na figura 6, observa-se o seguimento das atividades que foram realizadas com os participantes do estudo:

Figura 6 – Atividades realizadas com os participantes do estudo



Fonte: Elaborado pela autora.

4.2 Avaliação do Consumo Alimentar

Para a avaliação do consumo alimentar foi utilizado inquérito alimentar realizado de acordo com a técnica de registro alimentar de três dias, compreendendo dois dias alternados durante a semana e um dia no final de semana (sábado ou domingo), por ser considerado um método de referência e apresentar boa correlação com avaliação da ingestão de minerais como o Se (SCHRODER et

al., 2001). No momento da entrega dos formulários, os participantes da pesquisa foram orientados quanto à forma correta de registrar os alimentos, como discriminar os tipos de refeições, preparações, porcionamento, medidas caseiras, quantidades e horários em que as mesmas foram consumidas.

Os dados dos registros foram calculados pelo *software* "Nutwin", versão 1.5 do Departamento de Informática da Escola Paulista de Medicina/ UNIFESP (ANÇÃO et al., 2002). No banco de dados desse software foram inseridas dados de energia e macronutrientes dos alimentos e preparações consumidos, tomando por base a Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (TACO, 2011) da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP) e os rótulos dos alimentos fornecidos pelos participantes. Com relação ao Se, utilizou-se os dados de alimentos nacionais conforme Ferreira et al. (2002), bem como da Tabela de Composição de Alimentos do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) (IBGE, 2011).

Quanto ao consumo de macronutrientes, considerou-se a faixa de distribuição aceitável de macronutrientes (AMDR) do Institute of Medicine (IOM, 2005), cujos valores são: 45 - 65% para carboidratos, 10 - 35% para proteínas, 20 - 35% para lipídios. Para o Se, utilizou-se a necessidade média estimada (EAR) de 45 µg/dia, visto ser a recomendação que melhor estima as necessidades de grupos (IOM, 2000).

Após a realização da análise da dieta foi realizada o ajuste do selênio segundo a energia. O valor energético da dieta pode influenciar a quantidade dos nutrientes ingeridos e para controlar esse efeito faz-se necessário a realização do ajuste, sendo o método residual o mais recomendado (FISBERG et al., 2005; JAIME et al., 2003; WILLETT; STAMPFER, 1986). Realizou-se o teste de Kolmogorov-Smirnof para testar a normalidade dos dados tendo apontado que todas as variáveis apresentavam distribuição normal. Em seguida, verificou-se correlação significativa entre o selênio e a energia e, portanto, foi necessário o ajuste do selênio segundo a energia.

O cálculo possui quatro etapas. A primeira etapa consiste na análise de regressão linear simples, considerando-se o total de energia ingerida como variável independente e o valor absoluto do nutriente como variável dependente. Utilizando-se a equação geral da regressão linear, pôde-se determinar a quantidade estimada de nutriente (Y_e) que o indivíduo deveria consumir com a sua média de consumo de energia.

$$\text{Equação 1 : } Y_e = \beta_0 + \beta_1 \times \text{m\u00e9dia do consumo energ\u00e9tico do indiv\u00edduo}$$

Onde:

β_0 = intercepto da regress\u00e3o linear simples

β_1 = tangente

O res\u00edduo da regress\u00e3o (Y_r) representa a diferen\u00e7a entre a ingest\u00e3o atual observada (Y_o) para cada indiv\u00edduo e a ingest\u00e3o estimada.

$$\text{Equa\u00e7\u00e3o 2: } Y_r = Y_o - Y_e$$

Por defini\u00e7\u00e3o, o res\u00edduo possui m\u00e9dia zero e pode apresentar valores positivos e negativos. Com isso, faz-se necess\u00e1ria a adi\u00e7\u00e3o de uma constante, que \u00e9 estatisticamente arbitr\u00e1ria. Willett; Howe; Kushi (1997) prop\u00f5em que a constante seja o consumo do nutriente estimado para a m\u00e9dia do total de energia consumida pela popula\u00e7\u00e3o de estudo.

$$\text{Equa\u00e7\u00e3o 3: } Y_c = \beta_0 + (\beta_1 \times \text{m\u00e9dia do consumo energ\u00e9tico da popula\u00e7\u00e3o})$$

O valor do nutriente ajustado ou residual (Y_a) consiste na soma do Y_r e da constante Y_c e refere-se ao valor do nutriente ingerido n\u00e3o correlacionado com o total de energia consumida.

$$\text{Equa\u00e7\u00e3o 4 : } Y_a = Y_r + Y_c$$

4.3 An\u00e1lise dos Par\u00e2metros Bioqu\u00edmicos

4.3.1 Coleta do Material Biol\u00f3gico

Foram coletados 15 mL de sangue venoso, no per\u00edodo entre 7:00 e 9:00h, estando os participantes em jejum de no m\u00ednimo de 12h. A coleta foi realizada por um t\u00e9cnico em enfermagem, utilizando seringas pl\u00e1sticas descart\u00e1veis e agulhas de a\u00e7o inoxid\u00e1vel, est\u00e9reis e descart\u00e1veis. O sangue coletado foi distribuído em tubos com EDTA, para a an\u00e1lise do sel\u00eanio, da atividade enzim\u00e1tica da GPx1, concentra\u00e7\u00e3o plasm\u00e1tica da SepP e TBARS.

Ap\u00f3s a coleta, as amostras de sangue foram imediatamente armazenadas sob refrigera\u00e7\u00e3o (2\u00b0 a 8\u00b0 C) e transportadas ao Laborat\u00f3rio de Nutri\u00e7\u00e3o Experimental (LANEX) do departamento de nutri\u00e7\u00e3o da UFPI.

4.3.2 Separação dos Componentes do Sangue

Para a separação do plasma, as amostras foram centrifugadas a 3000 rpm, durante 15 minutos a 4 °C (SIGMA®4K15). Em seguida, o plasma foi extraído com pipeta automática e acondicionado em microtubos de polipropileno previamente desmineralizados e identificados. As amostras foram acondicionadas em freezer a -20°C até o momento das análises de Se no plasma, e a -80°C para determinação da SepP e TBARS.

A massa eritrocitária obtida do sangue total foi lavada três vezes com 5 ml de solução salina isotônica 0,9%, para remover contaminantes dos eritrócitos (plaquetas e leucócitos), sendo então homogeneizada lentamente por inversão e centrifugada a 3500 rpm durante 10 minutos a 4°C, sendo o sobrenadante descartado. Após a última centrifugação, a solução salina foi descartada e a massa eritrocitária cuidadosamente extraída com o auxílio de uma pipeta automática, transferida para microtubos de polipropileno desmineralizados e mantidos às temperaturas de -20°C e -80°C para posterior análise de Se eritrocitário e GPx1, respectivamente (WHITEHOUSE et al.,1982).

4.3.3 Controle de contaminação e preparo dos reagentes

A fim de garantir o controle de contaminação por minerais, toda a vidraria e o material de polipropileno utilizado para as análises foram desmineralizados em uma solução de ácido nítrico a 30%, durante um período mínimo de 12 horas, sendo então enxaguados dez vezes em água deionizada, secos em estufa e mantidos em depósitos fechados, até o momento da utilização (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 1985).

A água utilizada no preparo das soluções e para diluição das amostras foi processada pelo Milli-Q® Water System (Continental Water System Corp. El Paso, Texas). Todos os reagentes utilizados tinham grau de pureza analítica (P.A.).

4.3.4 Determinação do selênio plasmático e eritrocitário

As análises de selênio plasmático e eritrocitário foram feitas no Laboratório de Espectrometria de Emissão Atômica - Embrapa CNPMS. A análise de selênio foi

realizada em espectrômetro de emissão óptica com plasma acoplado indutivamente (720 ICP OES, *Varian Inc.*, Estados Unidos), utilizando sistema de gerador de hidretos (NABH_4) montado sobre uma plataforma *V-Groove* com nebulizador do tipo *Babington*, com orifício de gás de 70 mm acoplado (HARRINGTON et al., 2014; NIEDZELSKI; SIEPAK, 2003).

O aparelho foi configurado com as seguintes condições experimentais: Potência: 1,4 kW; Fluxo de plasma (gás): 15 L/min; Fluxo de gás auxiliar: 1,5 L/min; Tipo de câmara de *spray*: ciclônica; e Fluxo do nebulizador: 0,7 L/min.

As amostras de plasma foram diluídas em 1:20 (v/v) da seguinte forma: 3,0% (m/v) 1-butanol, 0,1% (v/v) TAMA (surfactante de alta pureza), 0,05% (v/v) HNO_3 . As amostras de eritrócitos/papa de hemácias foram diluídas em 1:60 (v/v) da seguinte forma: 3,0% (m/v) 1-butanol, 0,2% (v/v) TAMA (surfactante de alta pureza), 0,1% (v/v) HNO_3 . O Se (VI) foi reduzido para Se (IV) em HCl 4 M, esquentando a solução diluída a 90°C por 30 min. A escolha das linhas espectrais de análise foi baseada tanto na sua sensibilidade quanto na interferência espectral, sendo otimizadas para o selênio leituras nos comprimentos de onda de 196,026 nm e 203,985 nm. As amostras foram medidas em triplicata.

Solução estoque de 1000 $\mu\text{g/mL}$ de selênio (*Spex[®]CertiPrep*, Estados Unidos) foi utilizada para preparar as curvas de calibração e otimização das condições analíticas. Todos os padrões foram preparados da mesma forma que as amostras. As curvas de calibração foram preparadas nas seguintes concentrações: 1, 5, 10, 20, 50 e 100 $\mu\text{g/L}$ em soluções diluentes contendo 3,0% (m/v) 1-butanol, 0,1% (v/v) TAMA (surfactante de alta pureza) e 0,05% (v/v) HNO_3 . Os limites de detecção foram determinados a partir da equação: $3 \times$ desvio padrão de 10 medições do branco, dividido pela declividade da curva de calibração. Amostras de material de referência certificado (*Seronorm[®] Oligoelement Serum*, Noruega) foram determinadas para validar as medições analíticas em ICP OES.

Para avaliação do *status* do Se foram adotados os seguintes valores de referência: Se plasmático – 80 a 95 $\mu\text{g/L}$ (THOMSON, 2004), e Se eritrocitário – 0,18 a 0,55 $\mu\text{g/gHb}$ (VITOUX, ARNAUD, CHAPPUIS, 1999).

4.3.4.1 Determinação da hemoglobina

A concentração de hemoglobina na massa eritrocitária foi determinada conforme o método da cianometahemoglobina (VAN ASSENDELFT, 1972). Esse método se baseia na reação de oxidação do Fe^{+2} do grupo heme da hemoglobina pelo ferricianeto, e posterior reação com o cianeto de potássio para formar cianeto de hemoglobina. Inicialmente, em um microtubo contendo 300 μL de massa eritrocitária foi adicionado 900 μL de água ultrapura, perfazendo um lisado com proporção 1:4. Em seguida, a uma alíquota de 20 μL desse lisado foi acrescentado 5 mL de solução de Drabkin (Labtest[®], Brasil). A leitura da absorbância foi realizada em espectrofotômetro UV visível (Bel Photonics[®], SP1102) considerando o comprimento de onda de 540 nm.

4.3.5 Concentração plasmática da selenoproteína P

A Selenoproteína P foi quantificada usando o método ELISA do tipo sanduíche, com dois anticorpos monoclonais, N22 e N11, contendo no *kit Human Selenoprotein P (Elabscience Biotechnology[®], China)*, conforme Burk et al., (2006). Cada anticorpo reconhece um local de ligação específico na região terminal-NH₂ da selenoproteína P. Anteriormente ao processamento das amostras, uma curva analítica de calibração foi preparada nas seguintes concentrações: 10; 5; 2.5; 1.25; 0.625; 0.3125; 0.156; 0 ng/mL, utilizando-se uma solução padrão reconstituída com 1,0 mL de diluente da amostra padrão de referência. Nas placas de microtitulação de 96 poços revestidas com o anticorpo, foram adicionadas as amostras, o branco e o controle, sendo incubadas durante 90 minutos a 37 °C. Em seguida, adicionou-se 100 μL da solução trabalho e, foram incubadas novamente durante 1 hora a 37°C. Após isso, as placas foram lavadas com uma solução tampão de lavagem por três vezes. Adicionou-se 100 uL de solução de trabalho do conjugado HRP a cada poço, e incubou-se por 30 min a 37°C. As placas foram lavadas novamente por cinco vezes. Foi adicionado 90 μL de solução de substrato a cada poço e incubou-se durante cerca de 15 minutos a 37°C ou até a mudança de cor da placa. Em seguida, adicionou-se 50 μL de solução de paragem a cada poço. A cor se transformou em amarelo. A absorbância foi medida a 450 nm e a concentração da selenoproteína P do plasma (mg/L) foi calculada utilizando uma curva padrão ($r= 0,9992$).

4.3.6 Atividade da Glutathione Peroxidase

A determinação da atividade da glutathiona peroxidase eritrocitária foi realizada no Laboratório de Análises Clínicas do NAMI (núcleo de atendimento médico integrado) da Universidade de Fortaleza (UNIFOR), em analisador bioquímico automático Labmax 240 (Labtest[®], Brasil), utilizando kit *Ransel* 505 (*Randox Laboratories*[®], Reino Unido) com valor de referência de 27,5 a 73,6 U/gHb, segundo metodologia proposta por Paglia e Valentine (1967). A amostra foi preparada diluindo-se 100 µL de eritrócito em 100 µL de água ultrapura (lisado 1). Em seguida, adicionou-se 1 mL do diluente fornecido pelo kit a 50 µL do lisado 1, e após 5 minutos de incubação à temperatura ambiente, foi acrescentado 1 mL de solução de Drabkin (Labtest[®], Brasil) (lisado 2). No analisador bioquímico, foram automaticamente adicionados 20 µL de hidroperóxido de cumeno e 500 µL do reagente, ambos fornecidos pelo kit, a 10 µL do lisado 2. O declínio na absorbância das amostras foi medido em comprimento de onda de 340 nm. Os resultados foram expressos em unidades de enzima por grama de hemoglobina (U/gHb).

4.3.7 Determinação de TBARS

A determinação do marcador de peroxidação lipídica foi realizada a partir da produção de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), segundo o método descrito por Ohkawa, Ohishi e Yagi (1979), com adaptações, sendo as análises realizadas em triplicata.

Anteriormente ao processamento das amostras, uma curva analítica ($r = 1$) de calibração foi preparada nas seguintes concentrações: 0,5; 1,0; 2,0; 4,0; 8,0 µM/L, utilizando-se 1,1,3,3-tetraetóxiopropano (TEP) como padrão. Em microtubos de polipropileno com 200 µl de plasma e com 200 µl de água destilada (branco) foi adicionado 350 µl de ácido acético pH 3,5 e 600 µl de ácido tiobarbitúrico (TBA) 0,5%, diluído em ácido acético. Os microtubos em seguida foram submersos em banho maria com sistema de agitação a 85° C por uma hora, seguidos de banho de gelo por 15 minutos. Após o resfriamento 50 µl de dodecil sulfato de sódio (SDS) a 8,1% foram adicionados aos tubos, seguindo a centrifugação por 15 minutos a 12000 rpm a 25° C. O sobrenadante foi extraído e a absorbância lida a 532 nm em espectrofotômetro BEL[®] SP 1102. Os resultados foram expressos em µm/l. As análises foram realizadas no LANEX do Departamento de Nutrição da UFPI.

4.4 Análise Estatística

As análises estatísticas foram realizadas no software Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) for Windows® versão 20.0.1.1. Os resultados foram apresentados como média e desvio padrão. Utilizou-se o teste de Kolmogorov-Smirnov para análise da normalidade dos dados. Para fins de comparação entre os grupos estudados, o teste “t” de Student foi utilizado para as variáveis com distribuição normal, e o teste de Mann Whitney para aquelas com distribuição não paramétrica. Utilizou-se também para comparação entre os três grupos a ANOVA. Para o estudo de correlações, o coeficiente de correlação linear de Pearson foi utilizado. A fim de se verificar os principais determinantes para a doença de Crohn realizou-se a análise univariada, usando a Odds Ratio (OR). A diferença foi considerada estatisticamente significativa quando o valor de $p < 0,05$, adotando-se um intervalo de confiança de 95%.

4.5 Aspectos Éticos

O projeto foi executado mediante aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal do Piauí, submetido via Plataforma Brasil, sob o número do Certificado de Apresentação para Apreciação Ética – CAAE 32479814.2.0000.5214 (ANEXO A), conforme a Resolução 466/12 do Conselho Nacional de Saúde (CNS) (BRASIL, 2012). O projeto também foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do HU da UFPI (ANEXO B).

5 RESULTADOS

O estudo investigou 47 pacientes com DC. Destes, 20 estavam na fase ativa da doença (GI), e 27 na fase de remissão (GII). Conforme demonstrado na tabela 1, no grupo GI, a média de idade foi de $29,6 \pm 8,4$ anos, com tempo médio da doença de $8,6 \pm 9,5$ anos, sendo 55% do sexo feminino. O grupo GII tinha média de idade de $32,3 \pm 9,8$ anos e tempo médio da doença de $5,7 \pm 5,1$ anos, com distribuição semelhante entre os gêneros, sendo 44,5% do sexo feminino e 55,5% masculino. O grupo controle (GIII), foi composto por 25 participantes saudáveis, com média de idade de $32,4 \pm 6,4$ anos, sendo 68% do sexo feminino. Quanto a estas variáveis, o estudo não mostrou diferenças entre os grupos.

Quanto à escolaridade, houve predominância do ensino médio (40-45%) e do ensino superior (24-25,9%) nos três grupos. Com relação ao estilo de vida, nos grupos GI e GII, tanto o tabagismo quanto o consumo de bebida alcoólica foram pouco referidos, variando de 0-11,1% e de 12-20%, respectivamente (Tabela 1).

Tabela 1. Características gerais dos pacientes com doença de Crohn e controles. Teresina-PI, Brasil, 2016.

Variáveis	GI (n=20)	GII (n=27)	GIII (n=25)	P
Idade (anos)	$29,6 \pm 8,4$	$32,3 \pm 9,8$	$32,4 \pm 6,4$	0,379
Duração da doença (anos)	$8,6 \pm 9,5$	$5,7 \pm 5,1$	-	0,266
Sexo: n (%)				
Masculino	9 (45)	15 (55,5)	8 (32)	0,036
Feminino	11 (55)	12 (44,5)	17 (68)	
Escolaridade: n (%)				
Analfabeto	0 (0)	2 (7,4)	0 (0)	0,394
Ensino Fundamental	6 (30)	4 (14,8)	9 (36)	
Ensino Médio	9 (45)	12 (44,5)	10 (40)	
Ensino Superior	5 (25)	7 (25,9)	6 (24)	
Pós-graduação	0 (0)	2 (7,4)	0 (0)	
Tabagismo: n (%)				
Nunca	17 (85)	19 (70,4)	25 (100)	0,269
Sim	0 (0)	3 (11,1)	0 (0)	
Parou	3 (15)	5 (18,5)	0 (0)	
Consumo de bebida alcoólica: n (%)				
Não	16 (80)	23 (85,2)	22 (88)	0,640
Sim	4 (20)	4 (14,8)	3 (12)	

GI= atividade; GII= remissão; GIII= controle. Os valores são expressos como número (%) ou média \pm desvio padrão (DP). Teste *t de student* ($p < 0,05$)

Com relação ao parâmetro inflamatório avaliado (PCR), não houve diferença estatística entre os grupos, no entanto mostrou-se acima dos valores de referência, no grupo em atividade da doença, caracterizando o quadro inflamatório. As concentrações de albumina apresentaram-se acima dos valores de referência no grupo de pacientes em atividade, enquanto no grupo em remissão estes parâmetros se mantiveram dentro da normalidade, com diferença significativa ($p < 0,001$) entre os grupos em atividade ($3,4 \pm 0,5$) e remissão ($4,1 \pm 1,1$).

Tabela 2. Concentrações de albumina e PCR dos pacientes com doença de Crohn. Teresina- PI, Brasil, 2016.

Parâmetros Clínicos	GI (n=20)	GII (n=27)	P
	Média ± DP	Média ± DP	
Albumina (g/dL)*	3,4 ± 0,5	4,1 ± 1,1	<0,001
PCR (mg/L)	5,05 ± 12,8	3,37 ± 4,3	0,068

GI= atividade; GII= remissão.

Valores de referência: albumina: >3,5g/dL; PCR: < 5mg/L* teste Mann Whitney ($p < 0,05$)

A Tabela 3 mostra os resultados obtidos com o inquérito alimentar (registro alimentar de três dias) para ingestão de energia, proteína, carboidratos, lipídeos e Se. Verifica-se que não houve diferença estatística em relação ao consumo de energia. O consumo de macronutrientes estava de acordo com a faixa de distribuição aceitável de macronutrientes (AMDR) segundo o Instituto of Medicine (IOM, 2005), sem diferença entre os grupos. E, quanto ao consumo de Se não houve diferença estatística entre os grupos com a doença, porém ao compará-los com o grupo controle, ambos diferiram estatisticamente.

Tabela 3. Valores médios e desvios padrão da ingestão de energia, macronutrientes e selênio dos pacientes com doença de Crohn e controles. Teresina-PI, Brasil, 2016.

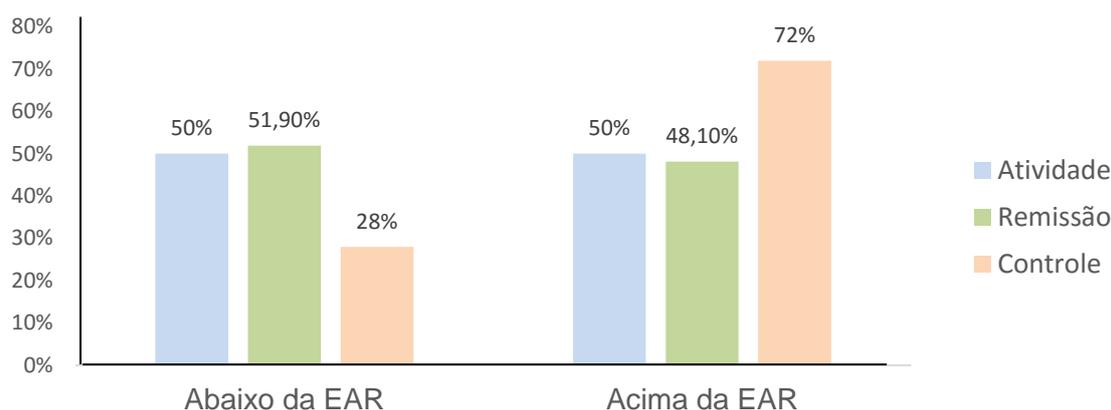
VARIÁVEL	GI (n=20)	GII (n=27)	GIII (n=25)	p1	p2	p3
	Média ± DP	Média ± DP	Média ± DP			
Energia (Kcal)	1413,6 ± 486,8	1722,3 ± 408,5	1590,5 ± 247,9	0,368	0,582	0,940
Carboidrato (%)	50,6 ± 13,6	53,9 ± 10,1	51,8 ± 7,1	0,986	0,444	0,395
Proteína (%)	22,8 ± 4,4	22,5 ± 6,8	21,4 ± 4,4	0,865	0,815	0,477
Lipídio (%)	23,1 ± 7,3	25,9 ± 6,5	27,6 ± 4,8	0,314	0,676	0,806
Selênio (µg/d)	48,6 ± 11	49,2 ± 17,7	65,7 ± 22,3	0,987	0,015	0,006

ANOVA ($p < 0,05$). GI= atividade; GII= remissão; GIII= controle. p1= atividade vs remissão; p2= atividade vs controle; p3= remissão vs controle. Valores de referência: 10 a 35% de proteína, 20 a 35% de lipídio, 45 a 65% de carboidratos (IOM, 2005). Valor de referência: EAR= 45 µg/d de Se (IOM,

2000).

A distribuição percentual dos participantes do estudo de acordo com os valores de referência da ingestão de selênio está representada na figura 7, verificou-se que cerca de 50% dos pacientes apresentaram ingestão de Se abaixo da EAR, enquanto no grupo controle esse percentual foi de 28%.

Figura 7. Distribuição percentual dos pacientes com doença de Crohn e controles segundo valor de referência da ingestão de selênio. Teresina-PI, Brasil, 2016.



Na tabela 4 estão demonstradas as concentrações bioquímicas referentes ao selênio e SepP. Observou-se que as médias das concentrações de Se plasmático estavam significativamente mais baixas nos grupos com a doença em relação ao grupo de pessoas saudáveis, como também em relação ao valor de referência. Com relação ao Se eritrocitário, as médias das concentrações estavam de acordo com o valor de referência adotado, apresentando-se significativamente mais reduzidas nos grupos com a doença. No que se refere à SepP, o estudo revelou concentrações significativamente menores nos pacientes em atividade da doença em relação ao grupo controle ($p=0,034$).

Tabela 4. Valores médios e desvios padrão do selênio plasmático, selênio eritrocitário e SepP dos pacientes com doença de Crohn e controles. Teresina-PI, Brasil, 2016.

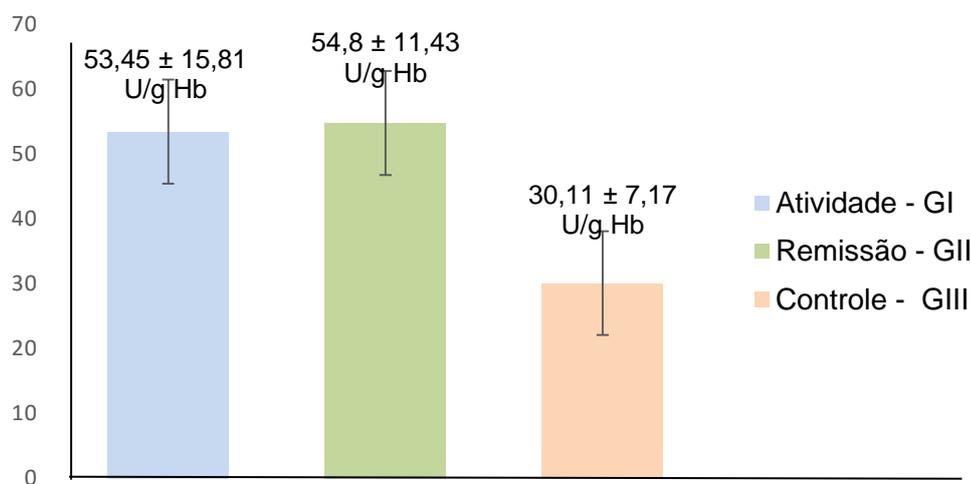
PARÂMETROS	GI (n=20)	GII (n=27)	GIII (n=25)	p1	p2	p3
	Média ± DP	Média ± DP	Média ± DP			
Se Plasm. ($\mu\text{g/l}$)	56,78 ± 3,13	64,09 ± 5,45	81,50 ± 15,43	0,022	<0,01	<0,01
Se Eritr. ($\mu\text{g/g Hb}$)	0,18 ± 0,03	0,19 ± 0,02	0,30 ± 0,06	0,899	<0,01	<0,01
SepP (mg/l)	1,28 ± 0,59	1,36 ± 0,40	1,65 ± 0,41	0,830	0,034	0,079

GI= atividade; GII= remissão; GIII= controle. ANOVA ($p<0,05$). p1= atividade vs remissão; p2= atividade vs controle; p3= remissão vs controle. Valores de referência para o selênio plasmático = 80

a 95 µg/l (THOMSON et al., 2004). Valores de referência para a selênio eritrocitário= 0,18 a 0,55 µg/g Hb (VITOUX, ARNAUD e CHAPPUIS, 1999).

Os resultados das análises da atividade da GPx estão apresentados na figura 8. Observou-se que não houve diferença estatística entre os grupos de pessoas com a doença ($p= 0,927$), no entanto, essa diferença foi verificada ao compará-los com o grupo controle ($p= <0,001$).

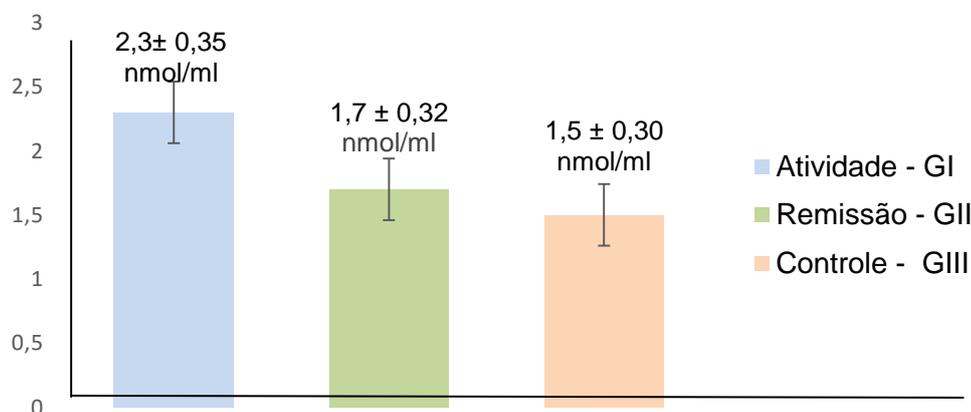
Figura 8 – Atividade enzimática da GPx1 dos pacientes com doença de Crohn e controles. Teresina-PI, Brasil, 2016.



ANOVA ($P<0,05$); $p=0,927$ (atividade vs remissão), $p<0,001$ (atividade vs controle), $p<0,001$ (remissão vs controles). Valores de referência para a GpX= 27,5 - 73,6 U/g Hb (kit Randox).

As concentrações plasmáticas médias de TBARS estão apresentadas na figura 9. Os pacientes do grupo em atividade da doença apresentaram maior concentração de TBARS, com diferença significativa entre GI e GII ($p<0,001$) e, GI e GIII ($p < 0,001$).

Figura 9 - Concentrações plasmáticas de TBARS dos pacientes com doença de Crohn e controles. Teresina-PI, Brasil, 2016.



ANOVA ($P<0,05$); $p<0,001$ (atividade vs remissão), $p<0,001$ (atividade vs controle), $p=0,255$ (remissão vs controles).

Os resultados da análise de correlação entre os biomarcadores do estado nutricional do selênio e o marcador de peroxidação lipídica avaliado neste estudo, estão apresentados na tabela 5. Verificou-se correlação positiva significativa entre as concentrações de TBARS e Se plasmático no grupo em remissão da doença e ainda, correlação negativa significativa entre as concentrações de TBARS e a atividade da GPx1 no grupo controle.

Tabela 5 - Análise de correlação linear simples entre os biomarcadores do estado nutricional do selênio com o marcador da peroxidação lipídica nos pacientes com doença de Crohn e controles. Teresina-PI, Brasil, 2016.

PARÂMETROS	TBARS (nmol/ml)					
	GI (n=20)		GII (n=27)		GIII (n=25)	
	<i>R</i>	<i>p</i>	<i>R</i>	<i>p</i>	<i>r</i>	<i>P</i>
<i>Se dietético (µg/d)</i>	-0,135	0,583	-0,039	0,861	0,001	0,995
<i>Se plasmático (µg/l)</i>	0,138	0,563	0,489	*0,010	-0,350	0,087
<i>Se eritrocitário (µg/g Hb)</i>	0,102	0,670	-0,190	0,342	0,297	0,149
<i>GPx1 (U/g Hb)</i>	0,106	0,665	-0,207	0,331	-0,498	*0,018
<i>SepP (mg/l)</i>	0,112	0,688	-0,184	0,379	0,229	0,271

Nota: GI= atividade; GII= remissão; GIII= controle. Correlação de Pearson ($p < 0,05$)

Observou-se ainda, correlação negativa entre as concentrações de PCR e SepP nos pacientes com DC ($r = -0,393$; $p = 0,047$), conforme figura 10. No grupo em atividade da doença encontrou-se uma forte correlação positiva e significativa entre as concentrações de albumina e SepP ($r = 0,739$; $p = 0,009$). A albumina também se correlacionou negativamente com as concentrações de PCR neste mesmo grupo ($r = -0,819$; $p = 0,04$), como demonstrado nas figuras 11 e 12, respectivamente.

Figura 10 – Correlação linear de Pearson entre as concentrações de PCR e SepP dos pacientes com doença de Crohn. Teresina-PI, Brasil, 2016.

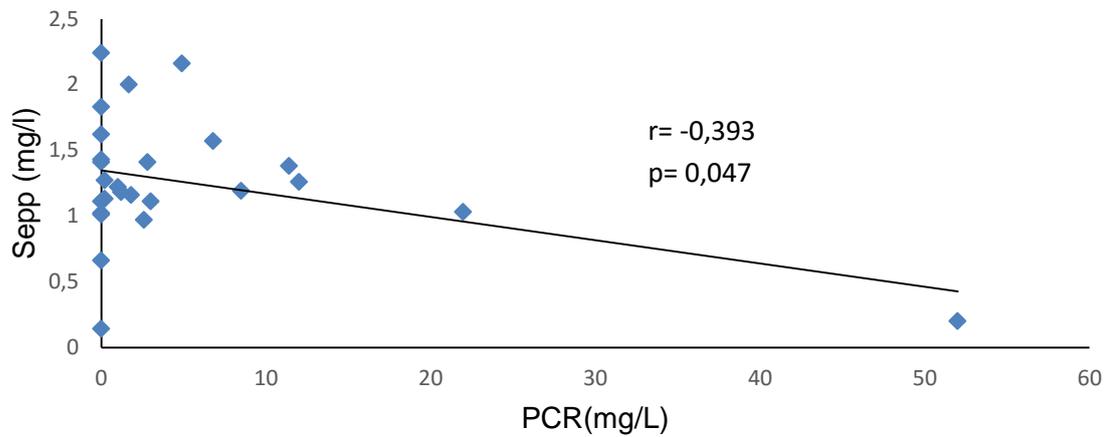


Figura 11 – Correlação linear de Pearson entre as concentrações de SepP e albumina dos pacientes com doença de Crohn na fase ativa. Teresina-PI, Brasil, 2016.

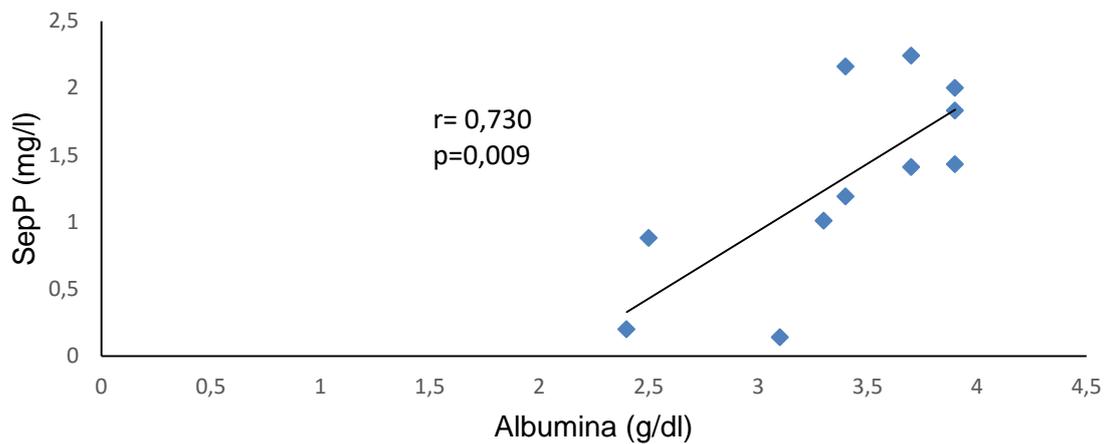
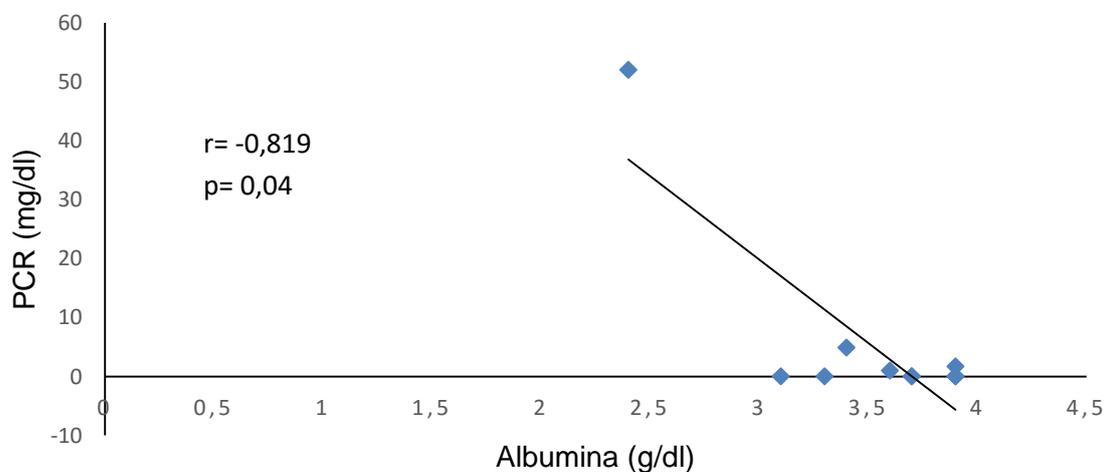


Figura 12 – Correlação linear de Pearson entre as concentrações de PCR e albumina dos pacientes com doença de Crohn na fase ativa. Teresina-PI, Brasil, 2016.



Buscando conhecer a contribuição das variáveis na DC e na peroxidação lipídica, realizou-se a análise univariada (tabelas 6 e 7). Foram incluídas no modelo àquelas que apresentaram associação com o evento e as que tiveram $p < 0,05$.

Tabela 6 – Análise univariada dos fatores associados à doença de Crohn. Teresina – PI, Brasil, 2016.

VARIÁVEIS	P	F	OR	IC (95%)
<i>Se Plasm. ($\mu\text{g/l}$)</i>	<0,001	37,6	58,5	6,9 - 494,0
<i>Se Eritr. ($\mu\text{g/g Hb}$)</i>	<0,001	33,0	14,9	1,8 - 119,8
<i>TBARS (nmol/ml)</i>	0,003	9,6	10,2	2,9 - 34,7

Legenda: $P < 0,05$. F= valor de Fischer. IC (95%) = Intervalo de confiança de 95%. OR= Odds Ratio

Tabela 7 – Análise univariada dos fatores associados às concentrações de TBARS. Teresina – PI, Brasil, 2016.

VARIÁVEIS	P	F	OR	IC (95%)
<i>Se Plasm. ($\mu\text{g/l}$)</i>	<0,001	48,4	5,1	1,3 - 20,1

Legenda: $P < 0,05$. F= valor de Fischer. IC (95%) = Intervalo de confiança de 95%. OR= Odds Ratio

6 DISCUSSÃO

Neste estudo analisou-se a relação entre o estado nutricional do Se e o estresse oxidativo em pacientes com DC, utilizando como marcadores as concentrações de Se dietético, plasmático e eritrocitário, de TBARS e SepP, e a atividade da GPx1.

A avaliação do estado nutricional relativo ao Se foi realizada com base no registro alimentar de três dias, bem como de marcadores bioquímicos referentes ao mineral. O estudo mostrou que os pacientes com DC (atividade e remissão) tinham um consumo de Se significativamente menor do que o grupo controle ($65,7 \pm 22,3$ µg/dia). As médias da ingestão dietética de Se dos grupos com a doença estavam acima da EAR (45 µg/dia), no entanto, ao realizar-se a distribuição percentual, observou-se que cerca de metade dos pacientes com DC, em atividade e remissão, tinham ingestão de Se abaixo da EAR.

Os resultados encontrados para o consumo dietético podem ser justificados pela reduzida ingestão de alimentos-fonte desse mineral, além da falta de apetite e restrições dietéticas frequentemente identificadas nestes pacientes na fase ativa da doença. Aliado a esses aspectos, o medo do aparecimento de dores abdominais, vômitos, náuseas e diarreia, decorrentes da alimentação (CAMPOS et al., 2002). É oportuno mencionar ainda, sobre os dados limitados das quantidades de Se nos alimentos, principalmente os cultivados em solo brasileiro, com importantes diferenças regionais, que podem não representar a ingestão real desse mineral.

Verificou-se que as médias das concentrações plasmáticas do Se nos grupos com a doença estavam significativamente menores, quando comparadas ao grupo controle e inferiores ao ponto de corte estabelecido por Thomson (2004) (80-95 µg/l), à despeito da média da ingestão dietética do mineral. Este quadro pode ser explicado por fatores inerentes à patogênese da doença, como a presença de fístulas, ressecções intestinais e o aumento das necessidades nutricionais, como consequência da atividade inflamatória (SILVA; SCHIEFERDECKER; AMARANTE, 2011). Nos pacientes em fase ativa da doença, este fato também pode ser atribuído às perdas associadas aos sintomas gastrointestinais, como vômitos e diarreias (O'SULLIVAN; O'MORAIN, 2006). Esses resultados estão de acordo com a literatura, que demonstra comprometimento do estado nutricional referente a este

nutriente em pacientes com DC (ANDOH, 2005; ANJALI et al., 2015; GEERLING et al., 1998; GEERLING et al., 2000; GENTSCHEW et al., 2012; RANNEM et al., 1992).

A deficiência de Se no plasma também pode ser atribuída às menores concentrações de SepP nos pacientes com DC encontradas nesse estudo, visto que essa selenoproteína transporta mais do que 60% de Se no plasma. Portanto a concentração plasmática de Se cai na ausência/redução da SepP, podendo assim, ser considerada um bom marcador do estado nutricional do Se (NOURBAKHSI et al., 2016).

As reduzidas concentrações dessa selenoproteína nos pacientes com DC podem ser explicadas pela diminuição da síntese de proteínas no fígado, como a SepP, na presença da inflamação (ANDOH et al., 2005). Essa relação é apoiada pela correlação negativa encontrada entre a PCR e SepP ($r = -0,393$; $p = 0,047$) nos pacientes com DC na fase ativa. Observou-se ainda neste grupo, forte correlação positiva entre SepP e albumina, que também é uma proteína de transporte, sintetizada pelo fígado, ($r = 0,739$; $p = 0,009$). A albumina por sua vez, também apresentou correlação inversa com a PCR ($p = 0,04$; $r = -0,819$), confirmando assim que a inflamação compromete a síntese da SepP, contribuindo para as menores concentrações de Se no plasma. Este estudo confirma a hierarquia da síntese de proteínas no fígado, verificada com o aumento da síntese de PCR em detrimento de proteínas de transporte como albumina e SepP, corroborando com Leite; Sarni (2005).

O estudo demonstrou que as concentrações de SepP permaneceram diminuídas na fase de remissão da doença, o que evidencia que pacientes com DC, mesmo em remissão tem baixa defesa antioxidante, explicando o dano celular contínuo, mesmo durante a fase não ativa. Esses resultados encontram apoio no estudo de Andoh et al. (2005), que também encontraram concentrações de Se plasmático e SepP significativamente menores nos pacientes com DC, principalmente naqueles em fase ativa da doença.

Com relação a otimização da SepP, de acordo com os valores de referência recomendados por Thomson (2004) (45-55 mg/dia), observou-se que cerca de metade dos pacientes com DC nas fases ativa e remissão (49%) consumiram Se em quantidades insuficientes para essa otimização, enquanto no grupo controle este percentual foi equivalente a 16%.

Ainda sobre a sua otimização, Xia et al., (2010) verificaram que a SepP requer uma maior ingestão de Se (79ug/d) e são necessárias concentrações de Se plasmático de 100-120 µg/l para atingir a sua otimização em relação a GPx. Tomando por base esses valores, no presente estudo 87,2% dos pacientes ingeriram Se em quantidades inferiores, e todos os pacientes apresentaram concentrações de Se plasmático insuficientes para otimizá-la. Dessa forma, sugere-se que as reduzidas concentrações de SepP nos grupos com a doença, seja um reflexo da sua não otimização.

No que se refere ao Se eritrocitário, as concentrações médias também estavam significativamente menores nos grupos com DC em relação ao grupo controle que pode ser devido ao estresse oxidativo presente na doença, e aos fatores inerentes à sua patogênese. De acordo com os valores de referência (0,18 a 0,55 µg/g) adotados neste estudo (VITOUX; ARNAUD; CHAPPUIS, 1999), as concentrações médias estavam adequadas, podendo ser atribuído ao fato do Se eritrocitário responder de forma mais lenta à mudança do estado nutricional relativo a esse mineral, devido à meia-vida de 120 dias dos eritrócitos, e também por ser menos influenciado pela inflamação decorrente da doença (VAN DAEL; DEELSTRA, 1993; STEFANOWICZ et al., 2013). Dessa forma, considerando que o Se eritrocitário reflete o estado de Se a longo prazo, sugere-se que biomarcadores a curto prazo, como o Se plasmático, sejam melhores para avaliar o status do mineral em doenças caracterizadas por ressidivas no seu curso clínico, como a DC.

Com relação à GPx1, os pacientes com a doença na fase ativa e remissão apresentaram maior atividade desta enzima. Contudo, não foi encontrada correlação significativa entre a atividade da GPx1 e o Se eritrocitário. Sobre a otimização dessa selenoproteína, apesar da identificação de concentrações adequadas do Se eritrocitário em quase 2/3 dos pacientes com DC, estas não foram suficientes para otimizar a atividade desta selenoproteína, segundo o valor de referência (>0,48 µg/g) sugerido por Stefanowicz et al. (2013).

Ainda sobre estas selenoproteínas, Stefanowicz et al. (2013) afirmam que cerca de 53% do Se plasmático é ligado à SepP. Neste estudo, as concentrações de Se dietético e plasmático estão em consonância com as concentrações da SepP, o que não foi encontrado para Se eritrocitário e GPx1. Com base nos resultados encontrados nesse estudo fica evidente que a SepP é o marcador que melhor traduz o estado nutricional de Se, refletindo a sua biodisponibilidade, pois suas

concentrações estão em consonância com o Se plasmático, o que não foi demonstrado para o Se eritrocitário e GPx1.

No que se refere às concentrações de TBARS, observou-se valores mais elevados nos pacientes com DC (ativos e remissão), demonstrando a presença de peroxidação lipídica, e provável aumento do estresse oxidativo. Essa alteração pode decorrer da produção elevada de EROs e ERNs, geradas por citocinas pró-inflamatórias (MORET et al., 2014). Estes resultados são apoiados por vários estudos que encontraram concentrações de MDA, uma das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico, significativamente maiores nos pacientes com DC, particularmente nos naqueles em fase ativa da doença (BELTRÁN et al., 2010; MAOR et al., 2008; ACHITEI et al., 2013 e ESMAELZADEH et al., 2016).

Conforme mencionado, as concentrações de TBARS se mantiveram elevadas mesmo nos pacientes em remissão da doença, o que pode demonstrar a provável permanência do quadro inflamatório, de forma subclínica, contribuindo para o estresse oxidativo, característico da doença. Nesse aspecto, vale ressaltar a correlação positiva encontrada entre a concentração de Se plasmático e TBARS no grupo em remissão. Com base neste resultado, entende-se que apesar do melhor estado nutricional desse mineral, representado pelas maiores concentrações nos parâmetros avaliados em relação ao grupo em atividade, sua ação antioxidante parece não ter sido suficiente para diminuir o estresse oxidativo presente na doença.

Sobre a GPx, apesar de não otimizada, segundo valor de referência adotado por Stefanowicz et al. (2013), sua atividade revelou-se elevada nos grupos com a doença. A elevada atividade dessa enzima pode ser considerada um mecanismo compensatório homeostático, frente à intensa produção de EROs decorrente da lesão na mucosa intestinal, observada neste estudo pelas elevadas concentrações de TBARS. Enzimas como a GPx1 são reguladas em resposta ao estresse oxidativo, por meio da indução da sua expressão gênica e mudanças na sua atividade e localização celular. Dessa forma, espera-se um aumento da sua expressão, por ser preferencialmente traduzida na recuperação pós-estresse (PAPP et al., 2007).

Corroborando com estes achados, Achitei et al. (2013) verificaram que pacientes com DC ativa apresentaram peroxidação lipídica significativamente aumentada, com uma elevada produção de EROs, demonstrada pela elevada atividade da GPx.

Contudo, o estudo não mostrou correlação significativa entre a atividade da GPx1 e TBARS nos grupos com a doença, apenas no grupo controle. Uma possível explicação para este fato seria as concentrações dietéticas, plasmáticas e eritrocitárias de Se estarem adequadas e significativamente maiores em relação aos grupos com a doença, o que pode ter contribuído para uma possível otimização da enzima e redução do estresse oxidativo.

Com relação à análise univariada realizada nesse estudo, as variáveis que tiveram maior contribuição no desfecho da doença, foram o Se plasmático, eritrocitário e TBARS, com destaque para o Se plasmático que quando deficiente aumenta em 58,5 vezes a chance de pertencer ao grupo com DC. A deficiência de Se no plasma também aumenta em 5,1 vezes a peroxidação lipídica nos indivíduos.

Esses resultados, evidenciam que o estado nutricional relativo ao selênio, e a produção de EROs têm relação com a DC, mostrando que concentrações reduzidas desse mineral podem contribuir para o efeito deletério do estresse oxidativo e do processo inflamatório em indivíduos com DC. O que sugere que o consumo de uma dieta rica em Se é uma importante estratégia para diminuir o estresse oxidativo com efeito benéfico na DC.

É importante destacar que o estudo apresenta algumas limitações, como a determinação de apenas um marcador pró-oxidante do estresse oxidativo (TBARS), bem como a não avaliação da atividade da GPx3, que permitiria uma melhor fundamentação sobre o estresse oxidativo presente na DC e o estado nutricional referente ao Se.

A importância da SepP como biomarcador do *status* do Se nos remete a avançar nos estudos de otimização das selenoproteínas, na perspectiva de conhecer as concentrações de Se necessárias para otimizá-las na população brasileira. Como perspectiva desse estudo, sugere-se a realização de estudos de suplementação com Se em pacientes com DC, contribuindo para o melhor entendimento acerca do papel desse mineral, como nutriente antioxidante, no estresse oxidativo presente nessa doença.

7 CONCLUSÃO

Os pacientes com doença de Crohn apresentam comprometimento no estado nutricional do selênio, condição reafirmada pela Selenoproteína P como biomarcador desse mineral. A elevada atividade da glutathione peroxidase 1 caracteriza o estresse oxidativo frente ao aumento da peroxidação lipídica, independente do grau inflamatório da doença. Essas evidências confirmam a relação entre o estado nutricional de selênio e o estresse oxidativo em pacientes com doença de Crohn.

REFERÊNCIAS

- ACHITEI, D., et al. Different Profile of Peripheral Antioxidant Enzymes and Lipid Peroxidation in Active and Non-active Inflammatory Bowel Disease Patients. **Digestive Diseases Science**, v. 58, p. 1244–1249, 2013.
- ANÇÃO, M. S.; CUPPARI, L.; DRAINE, A. S.; SINGULEM, D. **Programa de apoio à nutrição Nutwin: versão 1.5**. São Paulo: Departamento de Informática em Saúde, SPDM, Unifesp/EPM, 2002. 1 CD-ROM.
- ANDOH, M. D. et al., Serum selenoprotein-P levels in patients with inflammatory bowel disease. **Nutrition**. v. 21, n. 5, p. 574–579, 2005.
- ALISSA, E. M.; BAHIJRI, S. M.; FERNS, G. A. The controversy surrounding selenium and cardiovascular disease: a review of the evidence. **Medical Science Monitor**, v.9, n.1, p. 9-18, 2003.
- ALMONDES, K. G. de S., et al. O papel das Selenoproteínas no câncer. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 56, n. 4, p. 484-488, 2010.
- ALZOGHAIBI, A. M. Concepts of oxidative stress and antioxidant defense in Crohn's disease. **World Journal of Gastroenterology**, v. 19, n.39, p. 6540-6547, 2013.
- ANJALI et al. Serum zinc, copper and selenium level in inflammatory bowel disease patients and their relation with metabolic bone disease. **International Journal of Recent Trends in Science and Tecnology**, v. 14, n.1, p. 56-62, 2015.
- BHATTACHARYYA, A., et al. Oxidative Stress: An Essential Factor in the Pathogenesis of Gastrointestinal Mucosal Diseases. **Physiological Reviews**, v. 94, p. 329–354, 2014.
- BAUMGART, D. C; SANDBORN, W. J. Crohn's disease. **Lancet**, v. 380, n. 9853, p.1590–1605, 2012.
- BELTRÁN, B. et al. Mitochondrial dysfunction, persistent oxidative damage and catalase inhibition in native and treated Crohn's disease. **Inflammatory Bowel Disease**, v. 16, n. 1, p. 76–86, 2010.
- BRASIL, Ministério da Saúde. **Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas: Doença de Crohn**. Portaria SAS/MS nº 858, de 04 de novembro de 2002.
- BRASIL. Ministério da Saúde. **Resolução nº466/2012**. Conselho Nacional de Pesquisa com Seres Humanos. Diário Oficial da União. Brasília, 2012.
- BURK, R. F.; HILL, K. E. Selenoprotein P – Expression, Functions and Roles in Mammals. **Biochimica et Biophysica Acta**, v.1790, n.11, p. 1441–1447, 2009.
- BURK, R. F.; HILL, K. E.; MOTLEY, A. K. Selenoprotein Metabolism and Function: Evidence for More than One Function for Selenoprotein P. **The Journal of Nutrition**, v. 133, p. 1517–1520, 2003.

BURK, R. F., et al. Effects of Chemical Form of Selenium on Plasma Biomarkers in a High-Dose Human Supplementation Trial. **Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention**, v. 15, n. 4, p. 803-810, 2006.

CAMPOS, F. G. et al. Inflammatory bowel diseases. Principles of nutritional therapy. **Revista do Hospital das Clínicas**, v. 57, n.4, p. 187-198, 2002.

CASSAGO, Alexandre. **Determinação Estrutural da Proteína Selenocisteína Sintase da *Escherichia coli***. 110f. Tese (Doutorado em Física) – Instituto de Física de São Carlos da Universidade de São Paulo, São Carlos, 2010.

COMINETTI, C. et al. Considerações sobre estresse oxidativo, selênio e nutrigenética. **Nutrire: revista da Sociedade Brasileira de Alimentação e Nutrição**, v. 36, n. 3, p. 131-153, 2011.

CORMAN, M. L. **Colon and rectal surgery**. 6 ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2012.

DRUTEL, A.; ARCHAMBEAUD, F.; CARON, F. Selenium and the thyroid gland: more good news for clinicians. **Clinical Endocrinology**, v. 78, n. 2, p. 155–164, 2013.

DUNTAS, L. H. Selenium and the Thyroid: A Close-Knit Connection. **The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolismo**, v. 95, n.12, p. 5180–5188, 2010.

ELIA, P. P. et al. Descriptive analysis of the social, clinical, laboratorial and anthropometric profiles of inflammatory bowel disease inwards patients from the “Clementino Fraga Filho” University Hospital, Rio de Janeiro. **Arquivos de Gastroenterologia**, v. 44, p. 332-339, 2007.

ELIAKIM, R. et al. Second European evidence-based consensus on the diagnosis and management of ulcerative colitis part 1: definitions and diagnosis. **Journal of Crohn’s and Colitis**, v. 6, n. 10, p. 965-990, 2012.

ESMAELZADEH, A. et al. Pro-Oxidant Antioxidant Balance in Inflammatory Bowel Disease. **International Journal of Clinical Medicine**, v. 7, p. 334-341, 2016.

ESWORTHY, R. S., et al. Mice with combined disruption of Gpx1 and Gpx2 genes have colitis. **The American Journal Physiology Gastrointestinal and Liver Physiology**, v. 281, p. G848–G855, 2001.

FAIRWEATHER-TAIT et al. Selenium in Human Health and Disease. **Antioxidants & Redox Signaling**, v. 14, n.7, p. 1337-83, 2011.

FAIRWEATHER-TAIT, S. J.; COLLINGS, R.; HURST, R. Selenium bioavailability: current knowledge and future research requirements. **The American of Journal Clinical Nutrition**, v. 91, n. 5, p. 1484-1491, 2010.

FERREIRA, Diana Quitéria Cabral. **Avaliação do Estado Nutricional Relativo ao Selênio e da Expressão Gênica de Selenoproteínas em Pacientes com**

Aterosclerose Tratados com Estatinas. 67f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2010.

FERREIRA, K. S., et al. Concentrações de selênio em alimentos consumidos no Brasil. **Revista Pan-americana de Salud Publica/Pan American Journal Public Health**, v. 11, n. 3, p. 172-177, 2002.

FISBERG, R. M.; MARCHIONI, D. M. L.; SLATER, B.; MARTINI, L. A. Inquéritos alimentares: Métodos e Bases Científicas. São Paulo: **Manole**, 2005.

FLORA, A.P.L.; DICHI, I. Aspectos atuais na terapia nutricional da doença inflamatória intestinal. **Revista Brasileira de Nutrição Clínica**, v. 21, n. 2, p. 131-137, 2006.

FLORIAN S., et al. Cellular and subcellular localization of gastrointestinal glutathione peroxidase in normal and malignant human intestinal tissue. **Free Radical Research**, v. 35, p. 655–663, 2001.

GENTSCHEW, L. et al. Selenium, Selenoprotein Genes and Crohn's Disease in a Case-Control Population from Auckland, New Zealand. **Nutrients**, v. 4, n. 9, p.1247-1259, 2012.

GEERLING, B. J. et al. Comprehensive nutritional status in patients with long-standing Crohn disease currently in remission. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 67, p. 919–926, 1998.

GEERLING, B. J. et al. Comprehensive nutritional status in recently diagnosed patients with inflammatory bowel disease compared with population controls. **European Journal of Clinical Nutrition**, v. 54, p. 514–521, 2000.

GEERLING, B. J. et al. Nutritional supplementation with N-3 fatty acids and antioxidants in patients with Crohn's disease in remission: effects on antioxidant status and fatty acid profile. **Inflammatory Bowel Disease**, v. 6, p. 77–84, 2000.

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

GOYAL, N., et al. Animal models of inflammatory bowel disease: a review. **Inflammopharmacology**, v. 22, p. 219–233, 2014.

HARRINGTON, J. M., et al. Analysis of Human Serum and Whole Blood for Mineral Content by ICP-MS and ICP-OES: Development of a Mineralomics Method. **Biological Trace Elements Research**, v. 160, n.1, p.132-142, 2014.

HRDINA, J. B. A., et al. The gastrointestinal microbiota affects the selenium status and selenoprotein expression in mice. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 20, p. 638–648, 2009.

IBORRA, M., et al. Role of oxidative stress and antioxidant enzymes in Crohn's disease. **Biochemical Society Transactions**, v.39, n.4, p. 1102–1106, 2011.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz**. 3. ed. São Paulo: IMESP, 1985. 523 p.

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

INSTITUTE OF MEDICINE (IOM). **Dietary Reference Intakes for Energy Carbohydrate, Fiber, Fat, Fatty Acids, Cholesterol, Protein, and Amino Acid**. Washington, DC: National Academies Press, 2005.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Tabelas de Composição Nutricional dos Alimentos Consumidos no Brasil**. Rio de Janeiro, 2011.

IOANNIDIS, O. et al. Nutritional Modulation of the Inflammatory Bowel Response. **Digestion**, v. 84: p.89–101, 2011.

JAIME, P.C.; LATORRE, M.R.D.O.; FORNÉS, N.S.; ZERBINI, C.A.F. Estudo comparativo entre dois métodos de ajuste energético do consumo de nutrientes. **Nutrire: revista da Sociedade Brasileira de Alimentação e Nutrição**, v. 26, p. 11 - 18, 2003.

KAUSHAL, N., et al. Crucial role of macrophage selenoproteins in experimental colitis. **The Journal of Immunology**, v. 193, p. 3683-3692, 2014.

KAUSHAL, N., et al. The Regulation of Erythropoiesis by Selenium in Mice. **Antioxidants & Redox Signaling**, v. 14, n. 8, 2011.

KLEINUBING-JÚNIOR, H. et al. The profile of outpatients with inflammatory bowel Disease. **ABCD: Arquivos Brasileiros de Cirurgia Digestiva**, v. 24, p. 200-203, 2011.

KNUTSON, C. G. et al. Chemical and cytokine features of innate immunity characterize serum and tissue profiles in inflammatory bowel disease. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 110, n. 26, p. 2332-2341, 2013.

KRITTAPHOL, W., et al. Biotransformation of L: Selenomethionine and selenite in rat gut contents. **Biological Trace Element Research**, 2010.

KUDVA, A. K.; SHAY, A. E.; PRABHU, K. S. Selenium and inflammatory bowel disease. **The American Journal Physiology Gastrointestinal and Liver Physiology**, v. 309: G71–G77, 2015

LABUNSKYY, V. M.; HATFIELD, D. L.; GLADYSHEV, V. N. Selenoproteins: Molecular Pathways and Physiological Roles. **Physiological Reviews**, v. 94, n. 3, p.739–777, 2014.

LEITE, H. P.; SARNI, R. O. S. Nutrição, Mediadores Inflamatórios, Antioxidantes e Cicatrização. **Research Gate**, v. 17, p. 241-252, 2005.

MANGERICH, A., et al. Infection-induced colitis in mice causes dynamic and tissue-specific changes in stress response and DNA damage leading to colon cancer. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 109, n. 27, p. 1820–1829, 2012.

MAOR, I. et al. Oxidative Stress, Inflammation and Neutrophil Superoxide Release in Patients with Crohn's Disease: Distinction Between Active and Non-active Disease. **Digestive Disease Science**, v. 53, n. 8, p.2208–2214, 2008.

MEHDI, Y. et al. Selenium in the Environment, Metabolism and Involvement in Body Functions. **Molecules**, v. 18, n. 3, p.3292-3311, 2013.

MORET, I., et al. Estrés oxidativo en la enfermedad de Crohn. **Gastroenterología y Hepatología**, v. 37, n. 1, p. 28-34, 2014.

NIEDZIELSKI, P.; SIEPAK, M. Analytical Methods for Determining Arsenic, Antimony and Selenium in Environmental Samples. **Polish Journal of Environmental Studies**, v. 12, n. 6, 2003.

NOURBAKSH, M. et al. Selenium and its relationship with selenoprotein P and glutathioneperoxidase in children and adolescents with Hashimoto's thyroiditis and hypothyroidism. **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology**, v. 34, p.10-14, 2016.

OHKAWA, H.; OHISHI, N.; YAGI, K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. **Analytical Biochemistry**, v. 95, n. 2, p. 351 - 358, 1979.

OHTA, Y.; SUZUKI, K. T. Methylation and demethylation of intermediates selenide and methylselenol in the metabolism of selenium. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 226, p. 169–177, 2008.

O'SULLIVAN, M.; O'MORAIN, C. Nutrition in inflammatory bowel disease. **Best Practice & Research Clinical Gastroenterology**. v. 20, n. 3, p. 561-573, 2006.

PAGLIA, D. E.; VALENTINE, W. N. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. **Journal of Laboratory and Clinical Medicine**. v. 70, n. 1, p. 158-69, 1967.

PAPP, L. V., et al. From selenium to selenoproteins: synthesis, identity, and their role in human health. **Antioxidants & Redox Signaling**, v. 9, n. 7, 2007.

PARENTE, J. M. L, et al. Inflammatory bowel disease in an underdeveloped region of Northeastern Brazil. **World Journal Gastroenterology**, v. 21, n.4, p. 1197-1206, 2015.

PINTO, M. A. S. et al. Does active Crohn's disease have decreased intestinal antioxidant capacity? **Journal of Crohn's and Colitis**, v. 7, p. 358–366, 2013.

PODOLSKY, D.K. Inflammatory bowel disease. **New England Journal of Medicine**, v. 347, p. 417-429, 2002.

RANNEM, T. et al. Selenium status in patients with Crohn's disease. **American Journal Clinical Nutrition**, v. 96, p. 933-937, 1992.

RAYMAN, M. P. Selenium and human health. **Lancet**, v. 379, n. 9822. p. 1256–68, 2012.

SCHRODER, H. et al. Use of a three-day estimated food record, a 72-hour recall and a food-frequency questionnaire for dietary assessment in a Mediterranean Spanish population. **Clinical Nutrition**, v.20, n.5, p.429-437, 2001.

SHAGHAGHI, M. A., et al. Polymorphisms in the sodium-dependent ascorbate transporter gene SLC23A1 are associated with susceptibility to Crohn disease. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 99, p. 378–83, 2014.

SHAMIR, R. Nutritional aspects in Inflammatory bowel disease. **Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition**, v.48, p.86-88, 2009.

SHETTY, S. P.; SHAH, R.; COPELAND, P. R. Regulation of Selenocysteine Incorporation into the Selenium Transport Protein, Selenoprotein P. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 289, n. 36, p. 25317–25326, 2014.

SILVA, A. F.; SCHIEFERDECKER, M. E. M.; AMARANTE, H. M. B. S. Ingestão alimentar em pacientes com doença inflamatória intestinal. **ABCD: Arquivos Brasileiros de Cirurgia Digestiva**, v. 24, n. 3, p. 204-209, 2011.

SOUZA, M. M. de, et al. Qualidade de vida de pacientes portadores de doença inflamatória intestinal. **Acta Paulista de Enfermagem**. v. 24, n. 4, p. 479-84, 2011.

SPECKMANN, B., et al. Proinflammatory cytokines down-regulate intestinal selenoprotein P biosynthesis via NOS2 induction. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 49, n. 5, p. 777–785, 2010.

SPECKMANN, B.; STEINBRENNER, H. Selenium and Selenoproteins in Inflammatory Bowel Diseases and Experimental Colitis. **Inflammatory Bowel Disease**, v. 20, n. 6, p. 1110-1119, 2014.

STEFANOWICZ, F. A., et al. Erythrocyte selenium concentration as a marker of selenium status. **Clinical Nutrition**, v. 32, p. 837-842, 2013.

STRANGES, J. R. S. et al. Effects of long-term selenium supplementation on the incidence of type 2 diabetes: a randomized trial. **Annals of Internal Medicine**, v. 147, p. 217–223, 2007.

TACO. **Tabela Brasileira de Composição de Alimentos**. 4 ed. rev. ampl. Campinas: NEPA-UNICAMP, 2011.

TE VELDE, A. A. et al. Glutathione peroxidase 2 and aquaporin 8 as new markers for colonic inflammation in experimental colitis and inflammatory bowel diseases: An important role for H₂O₂? **European Journal of Gastroenterology & Hepatology**, v. 20, p. 555–560, 2008.

TINGII, U. Selenium: its role as antioxidant in human health. **Environmental Health and Preventive Medicine**, v.13, p. 102-108, 2008.

THOMSON, C. D. Assessment of requirements for selenium and adequacy of selenium status: a review. **European Journal of Clinical Nutrition**, v. 58, p. 391–402, 2004.

TOUAT-HAMICI, Z. Selective up-regulation of human selenoproteins in response to oxidative stress. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 289, n. 21, p. 14750–14761, 2014.

VAN ASSENDELFT, O. W. The measurement of hemoglobin. In: IZAK, G.; LEWIS, S. M. **Modern concepts in hematology**: symposia of the International Committee for Standardization in Hematology. New York: Academic Press, 1972, p. 14-25.

VAN DAEL, P.; DEELSTRA, H. Selenium. **International Journal for Vitamin and Nutrition Research**, v. 63, n. 4, p. 312-16, 1993.

VICTORIA, C. B.; SASSAKI, L. Y.; NUNES, H. R. C. Incidence and prevalence rates of inflammatory bowel diseases, in midwestern of São Paulo state, Brazil. **Arquivos de Gastroenterologia**. v. 26, n. 1, 2009.

VITOUX, D.; ARNAUD, J.; CHAPPUIS, P. Are Copper, Zinc and Selenium in Erythrocytes Valuable Biological Indexes of Nutrition and Pathology? **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology**, v. 13, n. 3, p.113-128, 1999.

VOLP, A. C. P. et al. Efeitos antioxidantes do selênio e seu elo com a inflamação e síndrome metabólica. **Revista de Nutrição**. v. 23, n. 4, p. 581-590, 2010.

XIA, Y. et al. Optimization of selenoprotein P and other plasma selenium biomarkers for the assessment of the selenium nutritional requirement: a placebo-controlled, double-blind study of selenomethionine supplementation in selenium-deficient Chinese subjects. **American Journal Clinical Nutrition**. v. 92, n. 3, p. 525-531, 2010.

YAMAMOTO, K.; CHIBA, T.; MATSUMOTO, T. Effect of tumor necrosis factor- α antagonists on oxidative stress in patients with Crohn's disease. **World Journal of Gastroenterology**. v. 21, n. 35, p. 10208-10214, 2015.

WHITEHOUSE, R. C., et al. Zinc in plasma, neutrophils, lymphocytes, and erythrocytes as determined by flameless atomic absorption spectrophotometry. **Clinical Chemistry**, v. 28, n. 3, p. 475-480, 1982.

WILLETT, W. C.; HOWE, G. R.; KUSHI, L. H. Adjustment for total energy intake in epidemiologic studies. **American Journal of Clinical Nutrition**, Bethesda, v. 65, suppl4, p.1220-1228, 1997.

WILLETT, W.; STAMPFER, M. J. Total energy intake: implications for epidemiologic analyses. **American Journal of Epidemiology**, Baltimore, v. 124, n. 1, p. 17-27, 1986.

APÊNDICE A - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO E CULTURA
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS E SAÚDE
Av. Frei Serafim, 2280, Centro, Teresina, Piauí, Brasil, CEP: 64001-020
Telefone: (86) 3215-5856/ Fax: (86) 3215-1148
E-mail: mestradosaude@ufpi.br

Título do projeto: Estresse oxidativo e atividade de citocinas na doença inflamatória intestinal

Subprojeto: Concentrações de selênio e selenoproteínas e sua relação com o estresse oxidativo em pacientes com doença de Crohn..

Pesquisador Responsável: Prof^a. Dra. Nadir do Nascimento Nogueira.

Instituição/Departamento: UFPI/ Departamento de Nutrição.

Pesquisadores participantes: Prof^a. Dra. Nadir do Nascimento Nogueira, Susy Érika de Lima Barros, Thaline Milany da Silva Dias.

Telefone para contato (inclusive a cobrar): (86) 9829-0728/ (86) 94067271

Você está sendo convidado (a) para participar, como voluntário (a), em uma pesquisa. Você precisa decidir se quer participar ou não. Por favor, não se apresse em tomar a decisão. Leia cuidadosamente o que se segue e pergunte ao responsável pelo estudo sobre qualquer dúvida que tiver. Este estudo será conduzido pelas Mestranda Susy Érika de Lima Barros, e pela aluna de iniciação científica Thaline Milany da Silva Dias, ambas sob orientação da Prof^a. Dra. Nadir do Nascimento Nogueira. **Após ser esclarecido (a) sobre as informações a seguir, no caso de aceitar fazer parte do estudo, assine este documento, que está em duas vias. Uma delas é sua e a outra é do pesquisador responsável.** Em caso de recusa, você não será penalizado (a). Em caso de dúvida, você pode procurar o Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal do Piauí pelo telefone (086) 3215 5437.

DESCRIÇÃO DA PESQUISA

Esta pesquisa tem por objetivo analisar as concentrações de selênio e selenoproteínas e sua relação com o estresse oxidativo em pacientes com doença de Crohn. Para tanto, o voluntário (a) será submetido (a) à coleta de sangue venoso para análise de selênio, determinação de selenoproteínas e TBARS, além disso, será determinado o consumo alimentar por meio de registro alimentar. Não será realizada entrevista gravada ou filmada. Ao participar da pesquisa, o voluntário (a) não sofrerá nenhum prejuízo; no entanto, poderá sentir leve desconforto em vista da coleta do material biológico requerido para realização desta pesquisa. Alguns procedimentos deverão realizar-se junto à Universidade Federal do Piauí, cabendo ao voluntário e/ou responsável comparecer à mesma quando for solicitado (a), em dia e hora a serem estabelecidos de acordo com a disponibilidade de ambas as partes pesquisador (a) e voluntário (a)).

Os participantes do estudo terão como benefícios os resultados dos exames bioquímicos das amostras de sangue, que serão fornecidos após a realização dos mesmos, e orientação nutricional. Em qualquer etapa do estudo, você terá acesso aos profissionais responsáveis pela pesquisa para esclarecimento de eventuais dúvidas. Se você tiver alguma consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Universidade Federal do Piauí (Campus Universitário Ministro Petrônio Portela, Bairro Ininga, Teresina, Piauí, Brasil; telefone: (86) 3215-5734; fax (86) 3215-5560).

Se você concordar em participar do estudo, seu nome e identidade serão mantidos em sigilo. A menos que requerido por lei ou por sua solicitação, somente o pesquisador, a equipe do estudo, Comitê de Ética independente e inspetores de agências regulamentadoras do governo (quando necessário) terão acesso a suas informações para verificar as informações do estudo. O projeto terá duração de dois anos, com término previsto para o primeiro semestre de 2016.

Teresina ___/___/___

Assinatura do Pesquisador Responsável
CONSENTIMENTO DA PARTICIPAÇÃO DA PESSOA COMO SUJEITO

Eu, _____
_____, RG _____, CPF _____, abaixo assinado, concordo em participar do projeto: **“Concentrações de Selênio e Selenoproteínas e sua relação com o estresse oxidativo em pacientes com Doença de Crohn”**, como sujeito. Tive pleno conhecimento das informações que li ou que foram lidas para mim, descrevendo o estudo. Discuti com as pesquisadoras acima citadas sobre a minha decisão em participar desse estudo. Ficaram claros para mim quais serão os propósitos do estudo, os procedimentos a serem realizados, seus desconfortos e riscos, as garantias de confidencialidade e de esclarecimentos permanentes. Ficou claro também que minha participação é isenta de despesas. Concordo, voluntariamente, em participar deste estudo e poderei retirar o meu consentimento a qualquer momento, antes ou durante o mesmo. A retirada do consentimento ao estudo não acarretará penalidades ou prejuízos.

Teresina ___/___/___

Assinatura do participante

Presenciamos a solicitação de consentimento, esclarecimentos sobre a pesquisa e aceite do sujeito em participar.

Testemunhas (não ligadas à equipe de pesquisadores):

Nome: _____

Assinatura: _____

Nome: _____

Assinatura: _____

Observações complementares _____

APÊNDICE B – FORMULÁRIO DE IDENTIFICAÇÃO



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS E SAÚDE E PROGRAMA DE
PÓS-GRADUAÇÃO EM ALIMENTOS E NUTRIÇÃO

Título do projeto: Estresse oxidativo e atividade de citocinas na doença inflamatória intestinal

Subprojeto 1: Concentrações de selênio e selenoproteínas e sua relação com o estresse oxidativo em pacientes com doença de Crohn.

Nº do Formulário: ____

Iniciais _____

Critérios de exclusão (perguntar antes):

- Tomar algum suplemento contendo selênio (p.ex. Modulen, Centrum)
- Estar grávida
- Estar amamentando
- Possuir diabetes, disfunção hepática ou renal, distúrbios da tireóide, AIDS ou câncer

DADOS SOCIO-ECONÔMICO-EDUCACIONAL	
Nome: _____	
Endereço: _____	
Ponto de referência: _____	
Onde você mora é: () zona rural ou () zona urbana	
Cidade: _____	Estado: _____
Telefones: _____	
Data de nascimento: ____/____/____	Idade: _____
Sexo: () masculino () feminino	
Qual a renda familiar? _____	Quantas pessoas moram com você? _____
Renda per capita: _____	
Qual seu estado civil?	
() Casado(a) () Desquitado(a) ou separado(a) judicialmente	
() Divorciado(a) () Viúvo(a) () Solteiro(a) () União conjugal	
Qual a sua escolaridade?	
() Analfabeto () EFI () EFC () EMI () EMC () ESI () ESC () pós-graduação	
HÁBITOS DE VIDA	
Você fuma ? () sim () não () parou Há quanto tempo parou? _____	
Em sua casa, alguém fuma? () sim () não	
Você consome alguma bebida alcoólica ? () sim () não	
Quantas dias no mês? () raramente () 1 dia no mês () 2-5 dias () 5-10 dias () > 10 dias	
Quantas doses? _____	
Você pratica alguma atividade física/exercícios ? () sim () não () parou	
Qual? _____	

Quantos dias na semana? () 1 () 2 () 3 () 4 () 5 () 6 () 7 () raro/social
 Quantas horas por dia? _____
 Há quanto tempo você começou a praticar? _____
 Motivo de parar a atividade _____
 Há quanto tempo parou? _____
 Nível de atividade física () sedentário () leve () moderada () intensa

HISTÓRICO CLÍNICO FAMILIAR

Entre seus pais e irmãos, alguém também tem DII? () sim _____ () não
 Quantos anos você tinha quando foi diagnosticado? _____
 Há quanto tempo você tem a doença? _____
 Você faz uso de **medicamentos**? () sim () não
 () Mesalazina ou sulfalazina () Azatioprina () corticosteróides - _____
 () Outros _____

Você usa ou já usou medicamentos biológicos?
 () Infliximabe () Adalimumabe () outros _____
 Se terapia biológica, quanto tempo faz uso _____ () parou – tempo _____

CLASSIFICAÇÃO PARA DII

Índice de atividade da Doença de Crohn (IADC)

Variável	Descrição das variáveis	F. M.	Subt.
1	Teve diarreia nos últimos 7 dias? Nº dejeções líquidas ou pastosas p/ dia:	X 2	
2	Teve dor abdominal nos últimos 7 dias? (0) – Nenhuma (1) – Leve (2) – Moderada (3) – Severa	X 5	
3	Qual a sua sensação de bem-estar nos últimos 7 dias? (0) – boa (1) – desconfortável (2) – mal (3) – péssimo (4) – terrível	X 7	
4	Teve alguma dessas complicações nos últimos 7 dias? (1) – artrite/artralgia (2) – irite/uveíte (3) – eritema nodoso, pioderma gangrenoso ou estomatite aftosa (4) – fístula ou abscesso (5) – febre > 37,8°C	X 20	
5	Usou difenoxilato ou loperamida? (0) – não (1) – sim	X 30	
6	Massa abdominal (0) – não (1) – duvidosa (2) – definitiva	X 10	
7	Hematócrito (Olhar no exame e fazer o cálculo) Homens (47 – HTC%) Mulheres (42 – HTC%)	X 6	
8	Peso (Após pesar fazer o cálculo) [1- (peso atual/peso habitual) x 100]	X 1	

Total: _____

ATIVIDADE () REMISSÃO ()

Doença em remissão: IADC < 150; Doença com atividade leve: IADC ≥ 150 < 220; Doença com atividade moderada: IADC ≥ 220 < 450; Doença com atividade grave: IADC ≥ 450

Classificação de Montreal DC (olhar no prontuário): _____

DADOS BIOQUÍMICOS

Proteína C-reativa	
Albumina	
Hematócrito	

APÊNDICE C - REGISTRO ALIMENTAR

Registro diário de sua alimentação



Nº Formulário: _____

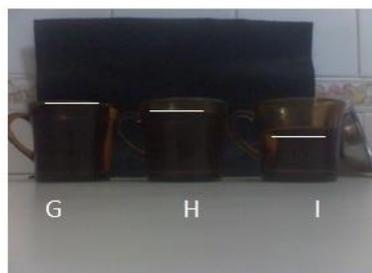
- ❖ Nós vamos avaliar sua alimentação. Pedimos que anote neste registro alimentar tudo que você comer e beber durante todo o dia e à noite. Você deverá anotar todos os alimentos consumidos, sendo 2 dias durante a semana e um dia no final de semana, totalizando 3 dias.
- ❖ Durante o preenchimento deste registro alimentar, alguns aspectos são importantes:
 - 1 Preencher logo após o consumo do alimento;
 - 2 Especificar as marcas dos alimentos industrializados;
 - 3 Procurar identificar o tamanho das frutas, vegetais, pedaços de carne, ou a quantidade que cada alimento é consumido, bem como o tipo de preparação (frito, cozido, assado) e caso haja molho, que tipo foi utilizado.
 - 4 Diferenciar qual o utensílio é usado, por exemplo:
 - 1 Colher – de chá, de sobremesa, de sopa, de servir ou concha
 - 2 Xícara – de chá ou de café
 - 3 Copo – grande ou de requeijão (americano)
 - 4 Prato de sobremesa
 - 5 Consumo mensal de óleo e sal da família: _____



A: Colher de servir; **B:** Colher de sopa; **C:** Colher de sobremesa; **D:** Colher de chá; **E:** Concha de servir **F:** Prato de sobremesa



Copo americano



G: Xícara cheia; **H:** Xícara nivelada; **I:** Xícara média

ANEXO A. CARTA DE APROVAÇÃO DO CEP / UFPI



UNIVERSIDADE FEDERAL DO
PIAUI - UFPI



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Estresse oxidativo e atividade de citocinas na doença inflamatória intestinal.

Pesquisador: Nadir do Nascimento Nogueira

Área Temática:

Versão: 3

CAAE: 32479814.2.0000.5214

Instituição Proponente: Universidade Federal do Piauí - UFPI

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 985.361

Data da Relatoria: 12/02/2015

Apresentação do Projeto:

Estudo de natureza transversal envolverá 188 pacientes que apresentam doença inflamatória intestinal (Doença de Crohn ou Colite Ulcerativa), de ambos os sexos, faixa etária entre 20 e 59 anos, que fazem parte da Associação dos Portadores da Doença de Crohn do Norte e Nordeste do Brasil (ACROHNN), assistidos no Hospital Universitário (HU) da Universidade Federal do Piauí – UFPI.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

Analisar o perfil nutricional relativo a minerais e vitaminas do complexo B, de marcadores do estresse oxidativo e inflamatório em pacientes com doença inflamatória intestinal.

Objetivo Secundário:

Analisar o consumo alimentar de macronutrientes e micronutrientes e sua adequação nutricional; Determinar as concentrações plasmáticas de zinco, selênio, vitamina B12 e folato e homocisteína; Analisar as concentrações plasmáticas de malondialdeído, isoprostano e grupos carbonila; Determinar a atividade da enzima superóxido dismutase e glutatona peroxidase; Quantificar interleucinas com ação pró e anti-inflamatórias nos pacientes; Analisar a expressão de genes codificadores das proteínas transportadores de zinco ZnT e Zip; Identificar biomarcadores de estresse oxidativo e inflamatórios para o diagnóstico

Endereço: Campus Universitário Ministro Petrônio Portella - Pró-Reitoria de Pesquisa

Bairro: Ininga CEP: 64.049-350

UF: PI Município: TERESINA

Telefone: (86)3237-2332 Fax: (86)3237-2332 E-mail: cep.ufpi@ufpi.edu.br

ANEXO A. CARTA DE APROVAÇÃO DO CEP / UFPI (Continuação)



UNIVERSIDADE FEDERAL DO
PIAUÍ - UFPI



Continuação de Parecer: 888-261

precoce e monitoramento da DII.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos:

Dentre as dificuldades que poderão interferir na execução do estudo está a adesão dos pacientes que irão compor a amostra. Para contornar essa dificuldade, pode-se adotar como estratégia a sensibilização dos mesmos, mostrando os benefícios que o estudo poderá trazer, além de aumentar o tempo de coleta de dados, a fim de garantir um número suficiente de pacientes para o alcance dos objetivos.

Benefícios:

Com base na contextualização do problema, é importante a realização de estudos que propiciem melhor entendimento sobre aspectos metabólicos envolvidos na defesa antioxidante, com participação de vitaminas e oligominerais, e na resposta inflamatória, para que ocorra melhorias no diagnóstico e tratamento de pacientes com DII."

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Pesquisa de tema relevante pois com base na contextualização do problema, é importante a realização de estudos que propiciem melhor entendimento sobre aspectos metabólicos envolvidos na defesa antioxidante, com participação de vitaminas e oligominerais, e na resposta inflamatória de pacientes com DII.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Todos os termos obrigatórios foram apresentados.

Recomendações:

Sem recomendações.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Projeto apto para aprovação.

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

Endereço: Campus Universitário Ministro Petrônio Portella - Pólo Petrolina de Pesquisa

Bairro: Ininga

CEP: 64.049-335

UF: PI

Município: TERESINA

Telefone: (86)32027-2000

Fax: (86)32010-2100

E-mail: cep@ufpi.edu.br

ANEXO A. CARTA DE APROVAÇÃO DO CEP / UFPI (Continuação)

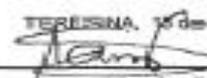


Continuação do Form. 005-181

UNIVERSIDADE FEDERAL DO
PIAUÍ - UFPI



TERESINA, 15 de Março de 2015


Assinado por:
Adrianna de Alencar Setubal Santos
(Coordenador)

Prof. Adrianna de Alencar Setubal Santos
Coordenadora CEP-UFPI
Pórtula Pesquisa 1º 182014

Endereço: Campus Universitário Ministro Petrólio (Ponala) - Pró-Reitoria de Pesquisa
Bairro: Ininga CEP: 64.040-550
UF: PI Município: TERESINA
Telefone: (86)3237-2332 Fax: (86)3237-2500 E-mail: cep.ufpi@ufpi.edu.br

Página 02 de 02

ANEXO B. CARTA DE APROVAÇÃO DO CEP / HU



EBSER

MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
EMPRESA BRASILEIRA DE SERVIÇOS HOSPITALARES
HOSPITAL UNIVERSITÁRIO / UFPI
CAMPUS UNIVERSITÁRIO PETRÔNIO PORTELLA S/N – BAIRRO ININGA
CEP: 64049-550 – TERESINA-PI

CARTA DE APROVAÇÃO Nº 41/15

Após análise do protocolo de pesquisa n. 41/15, intitulado “ESTADO NUTRICIONAL E MARCADORES DO ESTRESSE OXIDATIVO, INFLAMAÇÃO E EXPRESSÃO GÊNICA DE METALOPRÓTEINAS NA DOENÇA INFLAMATÓRIA INTESTINAL” comunicamos que o mesmo recebeu parecer **favorável** para realização da referida pesquisa, sendo realizada junto a Unidade de Laboratório de Análises Clínicas do Hospital Universitário.

Teresina, 01 de Abril de 2015

Dr. Lauro Lourival Lopes Filho
Presidente da CAAP- HUPI