

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
FACULDADE DE MEDICINA
DEPARTAMENTO DE CIRURGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO *STRICTO SENSU* EM CIRURGIA**

SIULMARA CRISTINA GALERA

**EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO ORAL DE GLUTAMINA
SOBRE O ESTRESSE OXIDATIVO EM INDIVÍDUOS DE
MEIA-IDADE E IDOSOS**

FORTALEZA
2008

SIULMARA CRISTINA GALERA

EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO ORAL DE GLUTAMINA
SOBRE O ESTRESSE OXIDATIVO EM INDIVÍDUOS DE MEIA-
IDADE E IDOSOS.

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Cirurgia da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para a obtenção do grau de Doutor.

Orientador:
Professor Doutor Paulo Roberto Leitão de Vasconcelos

FORTALEZA
2008

SIULMARA CRISTINA GALERA

EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO ORAL DE GLUTAMINA SOBRE O ESTRESSE
OXIDATIVO EM INDIVÍDUOS DE MEIA-IDADE E IDOSOS

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Cirurgia da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para a obtenção do grau de Doutor.

Aprovada em ____/____/____

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Antonio Carlos Ligoki Campos
Universidade Federal do Paraná
Membro da Banca Examinadora

Prof. Dr. Emilio Hideyuki Moriguchi
Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Membro da Banca Examinadora

Profa. Dra. Helena Alves de Carvalho Sampaio
Universidade Estadual do Ceará
Membro da Banca Examinadora

Prof. Dr. Lusmar Veras Rodrigues
Universidade Federal do Ceará
Membro da Banca Examinadora

Prof. Dr. Francisco Vagnaldo Fachine
Universidade Federal do Ceará
Membro da Banca Examinadora

Prof. Dr. Paulo Roberto Leitão de Vasconcelos
Universidade Federal do Ceará
Presidente da Banca Examinadora

*A Gabriel,
o anjo que nos ensinou a
conviver com a diferença e nunca desistir...*

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador, **Professor Doutor Paulo Roberto Leitão de Vasconcelos**, pelo apoio, incentivo e orientação em todas as fases deste estudo.

Ao **Programa de Pós-Graduação em Cirurgia**, pela acolhida, pela contribuição no meu desenvolvimento acadêmico e pela oportunidade de desenvolver este projeto.

Ao **Professor Doutor João Aragão Ximenes**, pelas sugestões no desenho deste estudo, pelas orientações, pela análise estatística e pelo incentivo.

Ao **Professor Doutor Francisco Vagnaldo Fechine**, pelas sugestões, pela análise estatística e pelo companheirismo.

À **Professora Zirlane Castelo Branco** e à **Professora Doutora Maria Jânia Teixeira**, pela realização dos exames laboratoriais específicos, pelo incentivo e pelo companheirismo.

Às médicas **Rosina Ribeiro Gabrielle** e **Maria Auxiliadora Barroso**, à fisioterapeuta **Ivana Daniela César**, à enfermeira **Acácia Maria Figueiredo Torres de Melo Moura**, à terapeuta ocupacional **Lucila Lopes Bonfim**, aos nutricionistas **Ana Mary Viana Jorge**, **Enalda Maria Félix Alves** e **André Ricardo Bindá de Borba**, pela colaboração na seleção dos pacientes e coleta dos dados.

À nutricionista **Ana Augusta Monteiro Cavalcante** pela colaboração na coleta dos dados, preparo do material e apoio em todas as fases deste estudo.

À engenheira de alimentos **Carina Marques Ferreira** pela separação do material para suplementação.

À acadêmica de medicina **Raquel Cavalcante Vasconcelos**, pela colaboração na seleção dos pacientes e coleta de dados.

À Instituição de Longa Permanência "**Lar Torres de Melo**", seus funcionários, equipe técnica e moradores pela abertura do espaço e participação neste estudo.

Ao **General Francisco Batista Torres de Melo**, presidente da Instituição de Longa Permanência "**Lar Torres de Melo**", pelo apoio logístico, institucional e pelo incentivo em todas as fases deste estudo.

À assistente social **Maria Marlene de Almeida Severo**, gerente da Instituição de Longa Permanência "**Lar Torres de Melo**", pelo apoio e incentivo na realização deste estudo.

Ao bioquímico **Heitor Ribeiro Filho**, pela colaboração na realização dos exames laboratoriais gerais.

Ao **Laboratório Evandro Chagas** e seus funcionários pela colaboração na realização dos exames laboratoriais gerais.

À **Sra Francisca Eugênia Matos** e **Sra. Ieda Maria Almeida Silva**, pelo preparo do material para suplementação.

Às secretárias **Sra. Magda Maria Gomes Fontenele** e **Sra. Maria Luciene Vieira de Oliveira** pela colaboração, eficiência e carinho em todo o período da pós-graduação.

À empresa **Nutrimed Industrial Ltda.** pela cessão de suas instalações e funcionários para separação do material para suplementação.

Ao **Fujisan** pela colaboração na realização dos exames específicos.

À **Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES)**, Ministério da Educação, pelas bolsas concedidas.

Ao **Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq)**, Ministério da Ciência e Tecnologia pelo financiamento da pesquisa.

*"... e, no entanto, ela se move."
Galileu Galilei*

RESUMO

EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO ORAL DE GLUTAMINA SOBRE O ESTRESSE OXIDATIVO EM INDIVÍDUOS DE MEIA-IDADE E IDOSOS. SIULMARA CRISTINA GALERA. Tese (Doutorado). Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Cirurgia. Orientador: Professor Doutor Paulo Roberto Leitão de Vasconcelos.

No processo do envelhecimento humano ocorrem alterações significativas no organismo, incluindo o aumento do estresse oxidativo, que tem sido responsabilizado pelo desencadeamento de muitas doenças degenerativas. A adoção de estratégia capaz de interferir no processo oxidativo seria fundamental para amenizar ou retardar o surgimento de afecções prevalentes na idade avançada. A utilização de substâncias em doses nutracêuticas, como precursoras de antioxidantes, tem sido muito estudada. A segurança e os efeitos da suplementação via oral de glutamina, em doses nutracêuticas, sobre o estresse oxidativo e o metabolismo glicêmico foram analisados em indivíduos de meia-idade e idosos. Para tanto, foi realizado um ensaio clínico randomizado, controlado, cruzado, duplo-cego. Foram selecionados, pelos critérios do Protocolo SENIEUR com modificações, 32 residentes em instituição de longa permanência, divididos em 2 grupos e submetidos à suplementação com L-glutamina e caseinato de cálcio via oral, na dose de 0,5g/Kg/dia por período de 14 dias intercalados por pausa temporal (*washout period*) de 5 dias. Foram realizados exames para avaliação de alterações hematológicas, hepáticas, renais e calculada a estimativa do Ritmo de Filtração Glomerular (eRFG), avaliada a capacidade antioxidante pela dosagem da Glutathione Total, cálculo da razão GSH/GSSG, do potencial redox pela Equação de Nerst e avaliada a peroxidação lipídica pela dosagem do TBARS (substância reativa ácido tiobarbitúrico) antes (T0) e após (T1) suplementação. Dos 32 participantes que iniciaram o estudo, um foi excluído por uso de antiinflamatório e outro se retirou por vontade própria. Dos 30 indivíduos restantes, 16 (53,3%) eram homens, média de idade $69 \pm 8,8$ anos, peso médio $61,8 \pm 14,2$ Kg, albumina sérica $4,0 \pm 0,3$ g/dL. Não houve efeito clínico adverso durante a utilização de L-glutamina, tampouco alteração significativa dos parâmetros laboratoriais, exceto aumento nos níveis de uréia, tanto no grupo caseinato (T0 = $33,033 \pm 8,688$; T1 = $43,066 \pm 11,732$; $p < 0,0001$) quanto no grupo glutamina (T0 = $34,100 \pm 9,117$; T1 = $44,200 \pm 8,833$; $p < 0,0001$) e aumento estatisticamente significativo de creatinina no grupo glutamina (T0 = $0,917 \pm 0,123$; T1 = $1,050 \pm 0,138$; $p < 0,0001$) e redução da eRFG: 13,3% na suplementação de L-glutamina e de 2,9% na suplementação de caseinato de cálcio, porém sem significado clínico. A concentração sanguínea de Glutathione Total não mostrou alteração com a suplementação de L-glutamina, tampouco houve alteração na capacidade de antioxidação do sistema glutathione avaliada pelo cálculo da razão GSH/GSSG, pela equação de Nerst e na peroxidação de lipídeos avaliada pela dosagem de TBARS. A suplementação de L-glutamina não teve impacto sobre a via glicolítica e secretagoga de insulina. Conclui-se que aumento nos níveis séricos de uréia e creatinina e a redução da estimativa de Ritmo de Filtração Glomerular são provavelmente devidos à dificuldade dos rins envelhecidos de metabolizar suplementos de fonte protéica. Embora não clinicamente significativas, estas alterações impõem um rigoroso controle na avaliação dos parâmetros da função renal durante a suplementação de L-glutamina na dose de 0,5g/kg/dia em indivíduos de meia-idade e idosos. Na ausência de estresse adicional, a suplementação de L-glutamina não altera o padrão das reações orgânicas de estresse oxidativo, próprias do envelhecimento, não justificando, portanto, seu uso nestas situações.

Palavras-chave: glutamina, glutathione, idoso, meia-idade, estresse oxidativo, peroxidação de lipídeos.

ABSTRACT

EFFECTS OF THE ORAL GLUTAMINE SUPPLEMENTATION ON OXIDATIVE STRESS IN MIDDLE-AGED AND ELDERLY INDIVIDUALS. SIULMARA CRISTINA GALERA. (Doctorate) Thesis. *Stricto Sensu* Post-Graduate Program for PhD in Surgery. Supervisor: Professor Doctor Paulo Roberto Leitão de Vasconcelos.

Significant alterations in the organism occur in the human aging process, including the increase of oxidative stress which has been held responsible for unleashing many degenerative diseases. The adoption of a strategy able to interfere in the oxidative process would be essential to ease or retard the appearance of disorders prevailing in advanced age. The usage of substances in nutraceutic dosages as antioxidants precursors has been much studied. Safety and effects of the oral L-glutamine supplementation, in nutraceutic dosages, on oxidative stress and glucose metabolism were analyzed in middle-aged and elderly individuals. Thus, a randomized, controlled, cross-over, double-blind clinic trial was performed. Through the SENIEUR test protocol criteria with modifications, 32 people living in a nursing home were selected, divided in 2 groups and submitted to oral L-glutamine and calcium caseinate supplementation at the dosage of 0.5/kg/day for a 14-day period intercalated by a 5-day washout period. Tests were performed in order to evaluate hematological, hepatic, renal alterations and the estimated Glomerular Filtration Rate (eGFR) was calculated, the antioxidant capacity was evaluated through the total glutathione dosage, calculation of GSH/GSSG ratio of the redox (oxidation-reduction) potential through the Nerst equation and the lipid peroxidation was evaluated through dosage of TBARS (thiobarbituric acid reacting substances), before (T0) and after (T1) supplementation. From 32 participants that started the study, one was excluded due to anti-inflammatory usage and the other withdrew by own will. 16 (53.3%) out of 30 were men, average age 69 ± 8.8 years, average weight 61.8 ± 14.2 kg, serum albumine 4.0 ± 0.3 g/dl. There was no clinical adverse effect during the L-glutamine usage, nor significant clinical alteration of laboratory parameters except for an increase in urea levels either at the caseinate group (T0= 34.100 ± 9.117 ; T1 = 44.200 ± 8.833 ; $p < 0.0001$) as at the glutamine group (T0 = 34.100 ± 9.117 ; T1 = 44.200 ± 8.833 ; $p < 0.0001$) and a statistically significant creatinine increase at the glutamine group (T0 = 0.917 ± 0.123 ; T1 = 1.050 ± 0.138 ; $p < 0.0001$) and at the GFR: 13.3% in L-glutamine supplementation and 2.9% in calcium caseinate supplementation, but without clinical significance. Blood levels of the Total Glutathione did not show alteration with L-glutamine supplementation, nor alteration in the anti-oxidation capacity of the glutathione system assessed through TBARS ratio calculation. L-glutamine supplementation had no impact on the glycolitic path and insulin secretagogue. It is concluded that the increase in urea and creatinine serum levels and the reduction of the estimated Glomerular Filtration Rate occur probably due to the difficulty of the aged kidneys to metabolize protein-sourced supplements. Although they are not clinically significant, these alterations impose a rigorous control in the evaluation of the kidney function parameters during the L-glutamine supplementation with doses of 0.5g/kg/day on middle-aged and elderly individuals. In absence of additional stress, the L-glutamine supplementation does not alter the organic reactions standard of oxidative stress, pertaining to aging, not justifying, therefore, its usage in these situations.

Key-words: glutamine, glutathione, elderly, middle-age, oxidative stress, lipid peroxidation.

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 – Perfil dos participantes do estudo.....	44
TABELA 2 – Valores da média e desvio padrão (ou mediana e intervalo interquartil) dos diversos parâmetros avaliados, referentes aos grupos Caseinato e Glutamina, obtidos nos tempos T0 e T1.....	45
TABELA 3 – Valores da média e desvio padrão do hematócrito (%) mensurado nos tempos T0 e T1 em 30 indivíduos dos grupos caseinato e glutamina.....	46
TABELA 4 – Valores da média e desvio padrão da hemoglobina (g/dl) mensurada nos tempos T0 e T1 em 30 indivíduos dos grupos caseinato e glutamina.....	47
TABELA 5 – Valores da média e desvio padrão do número de leucócitos (1/mm ³) obtido nos tempos T0 e T1 em 30 indivíduos dos grupos caseinato e glutamina.....	48
TABELA 6 – Valores da média e desvio padrão do número de linfócitos (1/mm ³), em valores absolutos, obtidos nos tempos T0 e T1 em 30 indivíduos dos grupos caseinato e glutamina.....	49
TABELA 7 – Valores da média e desvio padrão do percentual de linfócitos (%) obtidos nos tempos T0 e T1 em 30 indivíduos dos grupos caseinato e glutamina.....	50
TABELA 8 – Valores da média e desvio padrão da concentração sanguínea de uréia (mg/dl) mensurada nos tempos T0 e T1 em 30 indivíduos dos grupos caseinato e glutamina.....	51
TABELA 9 – Valores da média e desvio padrão da concentração sanguínea de creatinina (mg/dl) mensurada nos tempos T0 e T1 em 30 indivíduos dos grupos caseinato e glutamina.....	52
TABELA 10 – Valores da média e desvio padrão da estimativa do Ritmo de Filtração Glomerular (mL/min) mensurada nos tempos T0 e T1 em 30 indivíduos dos grupos caseinato e glutamina.....	53
TABELA 11 – Valores da média e desvio padrão da concentração sanguínea de AST (U/L) mensurada nos tempos T0 e T1 em 30 indivíduos dos grupos caseinato e glutamina.....	54
TABELA 12 – Valores da média e desvio padrão da concentração sanguínea de ALT (U/L) mensurada nos tempos T0 e T1 em 30 indivíduos dos grupos caseinato e glutamina.....	55
TABELA 13 – Valores da mediana e intervalo interquartil (percentil 25 – percentil 75) da concentração sanguínea de fosfatase alcalina mensurada nos tempos T0 e T1 em 30 indivíduos dos grupos caseinato e glutamina.....	56
TABELA 14 – Valores da média e desvio padrão da concentração sanguínea de Lactato (mmol/l) mensurada nos tempos T0 e T1 em 30 indivíduos dos grupos caseinato e glutamina.....	57
TABELA 15 – Valores da média e desvio padrão da concentração sanguínea de LDH (U/L) mensurada nos tempos T0 e T1 em 30 indivíduos dos grupos caseinato e glutamina.....	58
TABELA 16 – Valores da média e desvio padrão da concentração sanguínea de albumina (g/dl) mensurada nos tempos T0 e T1 em 30 indivíduos dos grupos caseinato e glutamina.....	59
TABELA 17 – Valores da média e desvio padrão da concentração sanguínea de pré-albumina (g/dl) mensurada nos tempos T0 e T1 em 30 indivíduos dos grupos caseinato e glutamina.....	60
TABELA 18 – Valores da média e desvio padrão da concentração sanguínea de Glutathione Total (µmol/mL) mensurada nos tempos T0 e T1 em 30 indivíduos dos grupos caseinato e glutamina.....	62
TABELA 19 – Valores da média e desvio padrão da concentração sanguínea de GSht (µM) mensurada nos tempos T0 e T1 em 30 indivíduos dos grupos caseinato e glutamina.....	63
TABELA 20 – Valores da média e desvio padrão da concentração sanguínea de GSSG (µM) mensurada nos tempos T0 e T1 em 30 indivíduos dos grupos caseinato e glutamina.....	64

TABELA 21 – Valores da mediana e intervalo interquartil (percentil 25 – percentil 75) da razão GSH/GSSG mensurada nos tempos T0 e T1 em 30 indivíduos dos grupos caseinato e glutamina.....	65
TABELA 22 – Valores da mediana e intervalo interquartil (percentil 25 – percentil 75) do potencial redox (mV) de acordo com a equação de Nernst, relativos às medições realizadas nos 30 indivíduos dos grupos caseinato e glutamina nos tempos T0 e T1.....	66
TABELA 23 – Valores da média e desvio padrão da concentração sanguínea de TBARS ($\mu\text{mol MDA/mL}$) mensurada nos tempos T0 e T1 em 30 indivíduos dos grupos caseinato e glutamina.....	67
TABELA 24 – Valores da média e desvio padrão da concentração sanguínea de glicose mensurada nos tempos T0 e T1 em 30 indivíduos dos grupos caseinato e glutamina.....	68
TABELA 25 – Valores da mediana e intervalo interquartil (percentil 25 – percentil 75) da concentração sanguínea de insulina ($\mu\text{U/mL}$) mensurada nos tempos T0 e T1 em 30 indivíduos dos grupos caseinato e glutamina.....	69
TABELA 26 – Valores da média e desvio padrão da concentração sanguínea de peptídeo C (ng/mL) mensurados nos tempos T0 e T1 em 30 indivíduos dos grupos caseinato e glutamina.....	70

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 – Peroxidação lipídica: cascata de eventos.....	17
FIGURA 2 – Etapas da síntese de Glutathiona.....	20
FIGURA 3 – Desenho do estudo.....	42
FIGURA 4 – Valores do hematócrito obtidos antes (T0) e após (T1) o tratamento nos sujeitos dos grupos caseinato e glutamina.....	46
FIGURA 5 – Valores da hemoglobina obtidos antes (T0) e após (T1) o tratamento nos indivíduos dos grupos caseinato e glutamina.....	47
FIGURA 6 – Contagem de leucócitos realizada antes (T0) e após (T1) o tratamento nos indivíduos dos grupos caseinato e glutamina.....	48
FIGURA 7 – Contagem de linfócitos, em valores absolutos, realizada antes (T0) e após (T1) o tratamento nos indivíduos dos grupos caseinato e glutamina.....	49
FIGURA 8 – Contagem de linfócitos, em termos relativos (percentuais), realizada antes (T0) e após (T1) o tratamento nos indivíduos dos grupos caseinato e glutamina.....	50
FIGURA 9 – Concentração sangüínea de uréia mensurada antes (T0) e após (T1) o tratamento nos indivíduos dos grupos caseinato e glutamina.....	51
FIGURA 10 – Concentração sangüínea de creatinina mensurada antes (T0) e após (T1) o tratamento nos sujeitos dos grupos caseinato e glutamina.....	52
FIGURA 11 – Estimativa do Ritmo de Filtração Glomerular mensurada antes (T0) e após (T1) o tratamento nos indivíduos dos grupos caseinato e glutamina.....	53
FIGURA 12 – Concentração sangüínea de AST mensurada antes (T0) e após (T1) o tratamento nos indivíduos dos grupos caseinato e glutamina.....	54
FIGURA 13 – Concentração sangüínea de ALT mensurada antes (T0) e após (T1) o tratamento nos indivíduos dos grupos caseinato e glutamina.....	55
FIGURA 14 – Concentração sangüínea de fosfatase alcalina mensurada antes (T0) e após (T1) o tratamento nos indivíduos dos grupos caseinato e glutamina.....	56
FIGURA 15 – Concentração sangüínea de lactato mensurada antes (T0) e após (T1) o tratamento nos sujeitos dos grupos caseinato e glutamina.....	57
FIGURA 16 – Concentração sangüínea de LDH mensurada antes (T0) e após (T1) o tratamento nos indivíduos dos grupos caseinato e glutamina.....	58
FIGURA 17 – Concentração sangüínea de albumina mensurada antes (T0) e após (T1) o tratamento nos indivíduos dos grupos caseinato e glutamina.....	59
FIGURA 18 – Concentração sangüínea de pré-albumina mensurada antes (T0) e após (T1) o tratamento nos sujeitos dos grupos caseinato e glutamina.....	60
FIGURA 19 – Concentração sangüínea de amônia mensurada após o tratamento (T1) nos sujeitos dos grupos caseinato e glutamina.....	61
FIGURA 20 – Concentração sangüínea de glutathiona total mensurada antes (T0) e após (T1) o tratamento nos indivíduos dos grupos caseinato e glutamina.....	62
FIGURA 21 – Concentração sangüínea de GSht mensurada antes (T0) e após (T1) o tratamento nos indivíduos dos grupos caseinato e glutamina.....	63
FIGURA 22 – Concentração sangüínea de GSSG mensurada antes (T0) e após (T1) o tratamento nos indivíduos dos grupos caseinato e glutamina.....	64
FIGURA 23 – Razão GSH/GSSG mensurada antes (T0) e após (T1) o tratamento nos indivíduos dos grupos caseinato e glutamina.....	65
FIGURA 24 – Avaliação do potencial redox, de acordo com a equação de Nernst, realizada antes (T0) e após (T1) o tratamento nos indivíduos dos grupos caseinato e glutamina.....	66

FIGURA 25 – Concentração sangüínea de TBARS mensurada antes (T0) e após (T1) o tratamento nos indivíduos dos grupos caseinato e glutamina.....	67
FIGURA 26 – Concentração sangüínea de glicose mensurada antes (T0) e após (T1) o tratamento nos indivíduos dos grupos caseinato e glutamina.....	68
FIGURA 27 – Concentração sangüínea de insulina mensurada antes (T0) e após (T1) o tratamento nos indivíduos dos grupos caseinato e glutamina.....	69
FIGURA 28 – Concentração sangüínea de peptídeo C mensurada antes (T0) e após (T1) o tratamento nos sujeitos dos grupos caseinato e glutamina.....	70
FIGURA 29 – Correlação eRFG e idade com suplementação de L-glutamina e caseinato de cálcio.....	71
FIGURA 30 – Diagramas de dispersão da Glutathiona Total em função da idade relativos aos grupos caseinato e glutamina, considerando os tempos T0 (antes do tratamento) e T1 (após o tratamento).....	72
FIGURA 31 – Diagramas de dispersão de GSht em função da idade relativos aos grupos caseinato e glutamina, considerando os tempos T0 (antes do tratamento) e T1 (após o tratamento).....	73
FIGURA 32 – Diagramas de dispersão de GSSG em função da idade relativos aos grupos caseinato e glutamina, considerando os tempos T0 (antes do tratamento) e T1 (após o tratamento).....	73
FIGURA 33 – Diagramas de dispersão da razão GSH/GSSG (após transformação com o logaritmo natural) em função da idade relativos aos grupos caseinato e glutamina, considerando os tempos T0 (antes do tratamento) e T1 (após o tratamento).....	74
FIGURA 34 – Diagramas de dispersão de TBARS em função da idade relativos aos grupos caseinato e glutamina, considerando os tempos T0 (antes do tratamento) e T1 (após o tratamento).....	75

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ALT – Alanina-transaminase

AST – Aspartato-transaminase

CA – Coeficiente Angular

CL – Coeficiente Linear

eRFG – Estimativa de Ritmo de Filtração Glomerular

ERN – Espécies Reativas Mistas de Hidrogênio e Nitrogênio

ERO – Espécies Reativas de Oxigênio

FA – Fostafatase Alcalina

GPx – Glutaciona Peroxidase

GRH – Glutaciona Redutase

GSH – Glutaciona Reduzida

GSSG – Glutaciona Oxidada

G6PDH – Glicose-6-Fosfato Desidrogenase

IPAQ – *International Physical Activity Questionnaire*

LDH – Lactato Desidrogenase

L-Glutamina – Glutamina na forma livre

MDA – Malondialdeído

NADPH – Nicotinamida-Adenina-Dinucleotídeo-Fosfato reduzido

SOGI – Suplementação Oral de Glutamina em Indivíduos de meia-idade e Idosos

TBARS – Substância Reativa Ácido Tiobarbitúrico

TSH – Hormônio Tireoestimulante.

TO – Tempo prévio a suplementação.

T1 – Tempo após suplementação

SUMÁRIO

RESUMO	6
ABSTRACT	7
LISTA DE TABELAS	8
LISTA DE FIGURAS	10
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS	12
SUMÁRIO	13
1 INTRODUÇÃO	14
1.1 Metabolismo Oxidativo	15
1.2 Antioxidantes	17
1.3 Glutathiona	18
1.4 Estresse oxidativo e Envelhecimento	22
1.5 Glutamina	24
1.6 Uso de substâncias antioxidantes	26
2 OBJETIVO	28
3 MÉTODO	29
3.1 Tipo de estudo	29
3.2 Local do estudo	29
3.3 Participantes	29
3.4 Suplementos utilizados	35
3.5 Desenho do estudo	35
3.6 Desfechos clínicos	37
3.7 Avaliação e acompanhamento laboratorial	38
3.8 Análise estatística	40
3.9 Aspectos éticos	41
3.10 Financiamento	41
4 RESULTADOS	43
4.1 Características dos participantes do estudo	43
4.2 Avaliação da segurança	45
4.3 Avaliação da capacidade antioxidante	61
4.4 Avaliação do impacto sobre via glicolítica e ação secretagoga de insulina	68
4.5 Avaliação da estimativa do Ritmo de Filtração Glomerular e idade	71
4.6 Avaliação da associação entre capacidade antioxidante e idade	72
5 DISCUSSÃO	76
6 CONCLUSÃO	86
7 REFERÊNCIAS	87
APÊNDICES	102
APÊNDICE A – Ficha de Avaliação Geriátrica Ampla	103
APÊNDICE B – Ficha de Avaliação 2	127
APÊNDICE C – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido	134
APÊNDICE D – Dados brutos	138
ANEXOS	142
ANEXO A – Ficha técnica dos suplementos	143
ANEXO B – Catálogo e bulas dos exames específicos	151
ANEXO C – Ofício de aprovação do Comitê de Ética e Pesquisa	161

1 INTRODUÇÃO

O envelhecimento da população brasileira vem ocorrendo de maneira acentuada. Estima-se que a faixa etária de 60 anos ou mais passará de 5% da população total em 1960, para 14% em 2025, quando o Brasil apresentará uma proporção de idosos semelhante ao registrado atualmente nos países desenvolvidos. No ano de 2050 a estimativa é de que os idosos representem 24,7% da população brasileira (RAMOS; VERAS; KALACHE, 1987; COELHO FILHO; RAMOS, 1999; GARCEZ-LEME; LEME; ESPINO, 2005; PARAHYBA; SIMÕES, 2006).

O processo de envelhecimento tem sido mais relatado nas regiões mais desenvolvidas do país, porém um aumento expressivo e rápido da população idosa tem ocorrido nas últimas décadas em regiões com indicadores socioeconômicos mais desfavoráveis e cujas estruturas etárias apresentam caracteristicamente maior proporção de jovens (COELHO FILHO; RAMOS, 1999). Na região Nordeste a população com 60 anos ou mais era da ordem de 3% da população em 1970 (FUNDAÇÃO INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA - FUNDAÇÃO IBGE, 1973), passando para aproximadamente 6% em 1991 (FUNDAÇÃO IBGE, 1992) e é estimada atualmente em 8,4% (INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA - IBGE, 2005). Em particular, o Ceará apresenta percentual de idosos em torno de 8,8%, representando envelhecimento acentuado desta população (IBGE, 2005).

O envelhecimento da população brasileira é acompanhado por transformações epidemiológicas e sociais que em outros países levaram a um aumento na necessidade de instituições de longa permanência para idosos. Muitas vezes as instituições de caráter asilar são a única opção para idosos e suas famílias (CHAYMOWICZ; GRECO, 1999; YAMAMOTO; DIOGO, 2002).

A modalidade asilar de atendimento “em regime de internato, ao idoso sem vínculo familiar ou sem condições de prover a própria subsistência de modo a satisfazer as suas necessidades de moradia, alimentação, saúde e convivência social” (BRASIL, 1996) ainda apresenta taxas muito baixas em nosso meio, em torno de 1% (CHAYMOWICZ; GRECO, 1999; YAMAMOTO; DIOGO, 2002; DAVIM *et al.*, 2004).

Em face do aumento da população idosa, um desafio apresenta-se como fundamental: assegurar que as pessoas atinjam idades avançadas de forma ativa e saudável. A consecução deste objetivo tem-se tornado cada vez mais possível, nas últimas décadas, em decorrência do notável avanço no entendimento dos mecanismos biológicos implicados na

senilidade (YAMAMOTO, 2000; ALMADA FILHO, 2002; JUNQUEIRA, 2005, PARAHYBA; SIMÕES, 2006).

1.1 Metabolismo Oxidativo

O conhecimento científico atual explica o metabolismo oxidativo como uma necessidade de oxigênio do organismo aeróbico para sua sobrevivência. No entanto, sabe-se que quando há concentração de oxigênio acima do limite do encontrado na natureza poderão ocorrer quadros de toxicidade (ALMADA FILHO, 2002; BAYIR, 2005; PANCORBO SANDOVAL, 2005).

A eficiência metabólica dos organismos aeróbicos em converter alimentos em energia química ocorre devido à utilização de oxigênio molecular como acceptor de elétrons no processo denominado fosforilação oxidativa. Nesse processo, uma parte dos elétrons, proveniente dos metabólitos, ativa parcialmente o oxigênio produzindo as chamadas Espécies Reativas de Oxigênio (ERO), que são definidas como espécies químicas que possuem um elétron não emparelhado em seu orbital mais externo. Há também os compostos mistos de oxigênio com hidrogênio e nitrogênio (ERN) (FERREIRA; MATSUBARA, 1997; YAMAMOTO, 2000; ALMADA FILHO, 2002; LEHNINGER, 2003; BAYIR, 2005).

Essas Espécies Reativas, também denominadas de Radicais Livres, são compostos químicos que apresentam instabilidade estrutural, o que faz com que tentem reagir com um elétron de outra substância com objetivo de se estabilizarem. A perda do elétron proporciona a criação de um novo radical livre, originando uma reação em cadeia que provoca lesões importantes em várias estruturas celulares (FERREIRA; MATSUBARA, 1997; YAMAMOTO, 2000; ALMADA FILHO, 2002; LEHNINGER, 2003; BAYIR, 2005).

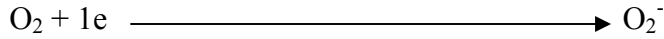
As Espécies Reativas de Oxigênio são produzidas predominantemente nas mitocôndrias e uma parcela menor é produzida nos peroxissomos, nos leucócitos (quando ativados por proteínas que atuam especificamente sobre eles, como as interleucinas, o complemento e outros) e nos locais de produção de enzima xantina desidrogenase (principalmente células endoteliais e epiteliais) (PANCORBO SANDOVAL, 2005).

Na mitocôndria ocorre o maior consumo de oxigênio celular (O_2) e esta organela atua com uma cadeia de enzimas que realizam reações de transferências de elétrons (ALMADA FILHO, 2002; PANCORBO SANDOVAL, 2005).

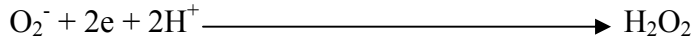
Desta forma, são produzidas fisiologicamente espécies reativas importantes como o ânion superóxido (O_2^-), o peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e o radical hidroxila (OH^\cdot), em

reações que podem ser resumidas como a seguir (ARMSTRONG; BROWNE, 1994; PANCORBO SANDOVAL, 2005; OPARA, 2006):

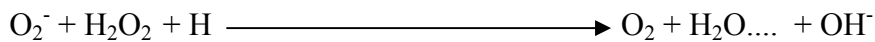
- Radical superóxido



- Peróxido de hidrogênio



- Radical hidroxila (o mais ativo)



As espécies reativas produzidas podem causar danos oxidativos que levam ao aumento do processo de peroxidação de lipídios, diminuição da fluidez da membrana e da quantidade de DNA celular, diminuição do número das mitocôndrias e alteração na atividade de suas enzimas (AMES; SHIGENAGA; HAGEN, 1993; ALMADA FILHO, 2002; PANCORBO SANDOVAL, 2005).

A peroxidação lipídica pode ser definida como uma cascata de eventos bioquímicos resultantes da ação das Espécies Reativas sobre os lipídios insaturados das membranas celulares levando à destruição de sua estrutura, falência dos mecanismos de troca de metabólitos e numa condição extrema à morte celular. É iniciada pela perda de um átomo de hidrogênio de um ácido graxo poliinsaturado e continua via Espécies Reativas para formar primariamente um produto estável, o hidroperóxido lipídico, e posteriormente um segundo produto estável, o aldeído lipídico conforme descrito na Figura 1 (BENZIE, 1996; YAGI, 1998).

A lipoperoxidação é um mecanismo bem estabelecido de lesão celular tanto em plantas como em animais sendo usado como um indicador do estresse oxidativo em células e tecidos. Ocorre também durante o processo de fagocitose pelos neutrófilos e monócitos, que contém mieloperoxidase, uma heme proteína. (ARMSTRONG; BROWNE, 1994; YAGI, 1998; LIMA; ABDALLA, 2001).

Peróxidos lipídicos derivam de ácidos graxos polinsaturados, são instáveis e se decompõem em uma série de compostos complexos, que incluem compostos carbonil reativos como malondialdeído (MDA). O malondialdeído é um produto que é formado da peroxidação lipídica, reage com o ácido tiobarbitúrico (TBA) e forma produtos que podem ser determinados por absorvância (532nm) ou por fluorescência (OHKAWA; OHISHI; YAGI, 1979; LIMA; ABDALLA, 2001).

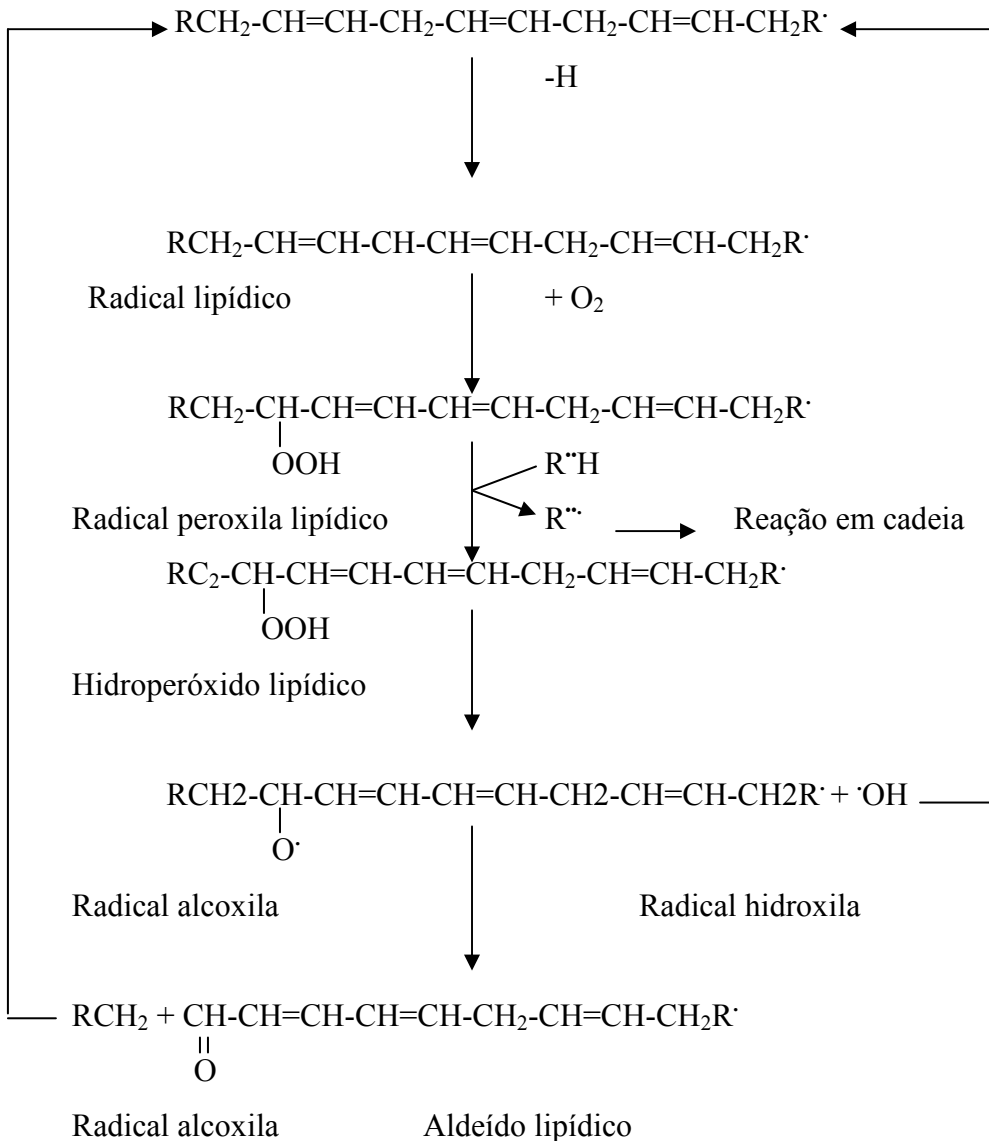


FIGURA 1 – Peroxidação lipídica: cascata de eventos.

1.2 Antioxidantes

Para combater a oxidação existem os antioxidantes: substâncias que, quando presentes em baixas concentrações em relação a um substrato oxidável, atrasam ou impedem a oxidação do mesmo (FERREIRA; MATSUBARA, 1997; LEHNINGER, 2003; PANCORBO SANDOVAL, 2005).

Esse processo pode ocorrer por dois mecanismos: 1) pela interrupção das reações em cadeia dos radicais livres por meio da doação de um íon hidrogênio a outras substâncias, sem perder estabilidade e 2) pela reação direta com os radicais livres, transportando posteriormente o resíduo da reação (PANCORBO SANDOVAL, 2005).

Existem dois sistemas interconectados de antioxidantes que são constituídos de micronutrientes e um sistema enzimático. O sistema não enzimático de micronutrientes é constituído de substâncias de baixo peso molecular como glutathiona (GSH), ubiquinona (Co Q10), carnosina, ácido úrico, bilirrubina e vitaminas como tocoferol (vitamina E), ácido ascórbico (vitamina C), beta-caroteno (pró-vitamina A) e retinol (vitamina A) além de oligoelementos como selênio, ferro, zinco, cobre e manganês. Esses oligoelementos, ao contrário do que se pensava anteriormente, agem como co-fatores e não como antioxidantes propriamente ditos (OPARA, 2006).

O sistema enzimático é formado pela glutathiona peroxidase (GPx), catalase (CAT), e superóxido dismutase (SOD).

Cobre, zinco e manganês são partes do núcleo ativo da superóxido dismutase, o ferro está relacionado à catalase e o selênio à glutathiona peroxidase. Paradoxalmente altas doses desses oligoelementos podem levar à produção de ERO (PANCORBO SANDOVAL, 2005; OPARA, 2006; OPARA; ROCKWAY, 2006).

O estresse oxidativo ocorre quando há um desequilíbrio entre as substâncias oxidantes e as substâncias antioxidantes (JUNQUEIRA, 2002; BAYIR, 2005; PANCORBO SANDOVAL, 2005).

A glutathiona peroxidase (maior antioxidante endógeno), descoberta em tecidos animais no ano de 1957, tem a função de reduzir o peróxido de hidrogênio e outros peróxidos orgânicos, como os lipoperóxidos oriundos da peroxidação lipídica, evitando a propagação deste processo. A superóxido dismutase catalisa a dismutação do radical superóxido em peróxido de hidrogênio e dióxido e a catalase decompõe o peróxido de hidrogênio em água e dióxido (ALMADA FILHO, 2002; JUNQUEIRA, 2002; CURI *et al.*, 2005).

Todo este sistema atua de maneira conjunta e há necessidade da presença de substâncias não enzimáticas para otimizar sua ação. Dessa forma, a diminuição da atividade de qualquer um de seus componentes resulta em perda da efetividade das defesas antioxidantes (ALMADA FILHO, 2002; BAYIR, 2005).

1.3 Glutathiona

O substrato da glutathiona peroxidase é a glutathiona (GSH), sintetizada no interior das células. É um tripeptídeo que contém um grupamento tiólico (-SH), e está presente em quase todas as células do corpo em concentrações milimolares. A GSH é composta de glicina, ácido glutâmico e cisteína atuando na proteção celular contra os efeitos tóxicos das Espécies

Reativas de Oxigênio (JUNQUEIRA, 2002; VALENCIA; MARIN; HARDY, 2001a; BIOLO; ANTONIONE; CICCIO, 2007).

A glutationa oxidada (GSSG) consiste em duas moléculas de GSH ligadas por pontes dissulfeto (VALENCIA; MARIN; HARDY, 2001 b).

A GSH é produzida em todos os órgãos especialmente no fígado. Está em um estado de constante “turnover” metabólico e o organismo tem a capacidade de sintetizá-la a partir de substratos oriundos da alimentação (VALENCIA; MARIN; HARDY, 2001 b, 2001c, 2001d; VALENCIA; MARIN; HARDY 2002a).

Estudos realizados em animais e humanos demonstraram que esse “turnover” é extremamente rápido variando de 50% a 100% por dia nos eritrócitos e 300% a 400% por dia no fígado (BIOLO; ANTONIONE; CICCIO, 2007).

Em situações de estresse o “turnover” da GSH aumenta como um mecanismo de defesa contra ERO produzidas por infecções, hipoperfusão, isquemia e reperfusão (VALENCIA, MARIN, HARDY, 2001a, 2001b).

A síntese endógena de GSH depende dos estoques de glutamina, cisteína, ornitina, prolina e glutamato presentes nos diferentes órgãos como fígado, músculos, pulmões, rins, células do sistema imunológico, glóbulos vermelhos e do trato gastrointestinal (VALENCIA; MARIN; HARDY, 2001a, 2001b).

Fígado e mucosa duodenal mantém concentrações de GSH duas a três vezes maior que do músculo esquelético e na mucosa gástrica a concentração também é elevada. Em todos estes tecidos há pequena proporção de GSSG (VALENCIA; MARIN; HARDY, 2001 b).

As células dos tecidos dos mamíferos contem cerca de 10mM de GSH e aproximadamente 0,5mM de GSSG no citosol e na matriz mitocondrial (VALENCIA; MARIN; HARDY, 2001c ; JUNQUEIRA, 2002).

O sangue tem uma concentração de glutationa de 0,57mM/L (500 a 1000µM/L) sendo que está contida quase que completamente nas células sanguíneas, pois a concentração no plasma é somente de 4,9 a 5,9µM/L (VALENCIA; MARIN; HARDY, 2001b).

Níveis plasmáticos são mantidos primariamente pelo balanço entre secreção do fígado e degradação pelo rim. Os eritrócitos podem refletir a capacidade de síntese do fígado que é o órgão que desempenha papel central na homeostase da glutationa entre os órgãos. No fígado encontra-se o maior estoque e a maior fonte de glutationa (BIOLO; ANTONIONE; CICCIO, 2007).

A vida média da GSH é estimada em quatro dias em eritrócitos humanos e em três horas em fígados de ratos e está em constante “turnover” metabólico (VALENCIA; MARIN; HARDY, 2001c; JUNQUEIRA, 2002).

A função antioxidante da GSH primariamente é devida à participação no sistema enzimático constituído de GSH oxidase e redutase. Também funciona como antioxidante independente deste sistema enzimático na doação de hidrogênio para reparar danos de DNA. Possui ainda outras funções celulares como transporte de aminoácidos, síntese de proteínas e ácidos nucleicos, manutenção das membranas celulares, atuação em outras vias metabólicas como co-fator de enzimas, regulação do *shunt* monofosfato-hexose, proteção contra exposição à radiação e endotoxinas além da atuação nos quadros de septicemia e choque cardiogênico (VALENCIA; MARIN; HARDY, 2001b; GRIMBLE, 2005).

A síntese da glutathiona ocorre em etapas, sendo a primeira a produção do dipeptídeo gama-glutamil-cisteína, proveniente de cisteína e glutamato. Esta reação é catalisada pela gama-glutamil-cisteína sintetase, esta etapa tem sido considerada limitante sendo, a atividade da enzima regulada pela inibição do *feedback* da glutathiona. A segunda etapa da síntese adiciona glicina ao dipeptídeo gama-glutamil-cisteína e é catalisada pela glutathiona sintetase como observado na Figura 2 (VALENCIA; MARIN; HARDY, 2001b, 2001c; JUNQUEIRA, 2002).

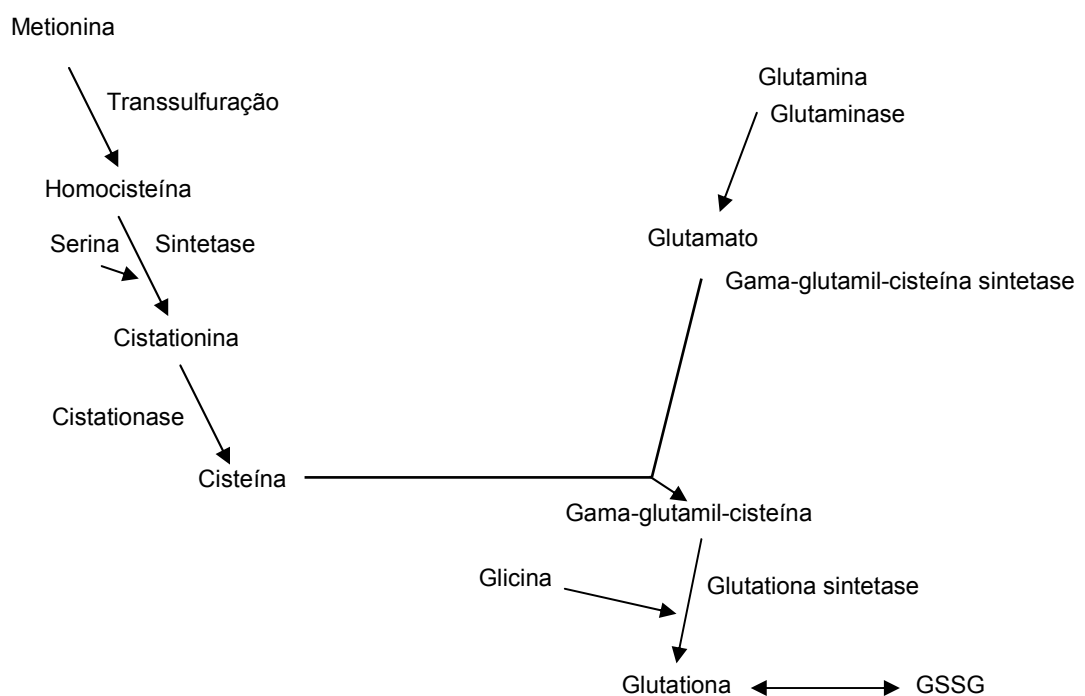
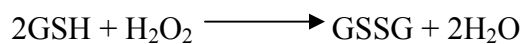


FIGURA 2 – Etapas da síntese de Glutathiona

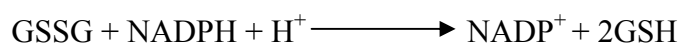
A regulação da síntese de GSH é feita fundamentalmente por três fatores: 1) níveis da enzima gama-glutamilcisteína sintetase; 2) disponibilidade de seus substratos, principalmente a L-cisteína; 3) *feedback* negativo de GSH na gama-glutamilcisteína sintetase. Além disso, há evidências de que a atividade da gama-glutamilcisteína sintetase pode ser modulada pela fosforilação e nitrosação. Os mecanismos exatos desses controles ainda não são bem conhecidos, principalmente com relação à magnitude das alterações (GRIFFITH, 1999).

Como definido anteriormente, a função da GSH como um antioxidante é decorrente principalmente da participação no sistema que contém glutathione oxidase e glutathione reductase (VALENCIA; MARIN; HARDY, 2001b).

A glutathione peroxidase (GPx), encontrada no citosol e na matriz mitocondrial, apresenta na sua composição quatro subunidades, cada uma delas possuindo um átomo de selênio. Esta enzima remove o peróxido de hidrogênio (H₂O₂) pela oxidação de GSH, e por sua vez, o peróxido de hidrogênio é produzido no citosol pela superóxido dismutase na presença de cobre e zinco e na mitocôndria pela superóxido dismutase e manganês (SIES, 1999; VALENCIA; MARIN; HARDY, 2001b; JUNQUEIRA, 2002; OPARA, 2006):

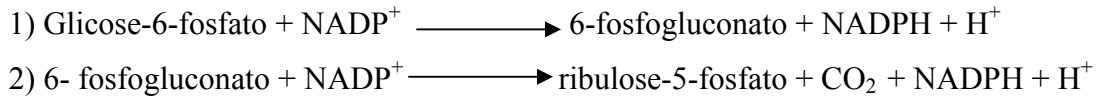


A glutathione reductase (GRH), utilizando como co-fator o nicotinamida-adenina-dinucleotídeo-fosfato reduzido (NADPH), reduz a GSSG (GRIFFITH, 1999; VALENCIA; MARIN; HARDY, 2001b; JUNQUEIRA, 2002):



A formação da GRH se dá por duas subunidades protéicas, cada uma contendo uma molécula de flavina-adenina-dinucleotídeo (FAD) ligada ao sítio catalítico. Acredita-se que o NADPH reduz o FAD que doa os elétrons para a ponte dissulfeto (-S-S-) entre os resíduos de cisteína no sítio catalítico. Posteriormente, os dois grupos -SH formados interagem com o GSSG e o reduzem a 2GSH, restabelecendo a ponte dissulfeto na GRH. O NADPH é produzido por sistemas enzimáticos nas células. O sistema mais conhecido é o da via das hexoses monofosfato (via das pentoses). Há duas reações que geram NADPH e a atividade das mesmas é controlada pelo suprimento de NADP⁺. Uma das reações é catalisada

pela glicose-6-fosfato desidrogenase (G6PDH), e a outra pela 6-fosfogluconato desidrogenase (VALENCIA; MARIN; HARDY, 2001b; JUNQUEIRA, 2002):



Durante a inativação de um composto oxidante ocorre a produção de GSSG e depleção de GSH. Nas situações em que o sistema de óxido-redução está íntegro o GSH se recupera como demonstrado anteriormente. Porém, em condições de excesso de substâncias oxidantes e/ou deficiência do sistema protetor ocorrerá um desequilíbrio entre o consumo de GSH e a produção de GSSG, caracterizando o estresse oxidativo (FERREIRA; MATSUBARA, 1987).

1.4 Estresse Oxidativo e Envelhecimento

No envelhecimento ocorrem alterações significativas no organismo, incluindo o aumento do estresse oxidativo, que tem sido responsabilizado pelo desencadeamento de muitas doenças degenerativas. Essa relação é evidenciada principalmente quando é acompanhado de incapacidades e deficiências nutricionais. A adoção de estratégias capazes de interferir no processo oxidativo pode ser fundamental para amenizar ou retardar o surgimento de afecções prevalentes na idade avançada (MARKESBERY, 1997; MIQUEL, 2001; ROTSTEIN, 2001; ALMADA FILHO, 2002; JONES *et al.*, 2002; JUNQUEIRA, 2002; PAOLONI-GIACOBINO; GRIMBLE; PICHARD, 2003; DRÖGE, 2005; JUNQUEIRA; RAMOS, 2005).

Durante o processo de envelhecimento, há um declínio progressivo na biodisponibilidade dos antioxidantes moleculares, seja por um aumento do gasto para contrabalançar a ação deletéria de Espécies Reativas (ERO/ERN) seja pela menor absorção no sistema digestório (AMES *et al.*, 1993; SAMIEC *et al.*, 1998; YAMAMOTO, 2000; MIQUEL, 2001; JONES *et al.*, 2002; JUNQUEIRA, 2002).

A cisteína, como precursor de glutathiona, tem sido também estudada como fundamental no processo de envelhecimento, que representaria uma síndrome de deficiência de cisteína (DRÖGE, 2005).

Os tiois de cisteína são alvos comuns da oxidação, fenômeno agravado pelo fato de que são fundamentais para função de muitas enzimas, receptores, canais de íons, transporte

e fatores de transcrição. A cisteína sofre rápida autooxidação e é tóxica aos sistemas dos mamíferos se a concentração excede o normal, pois baixas concentrações micromolares são encontradas no plasma. Suplementos de cisteína, sem causar toxicidade, são mantidos por um mecanismo interórgãos envolvendo interconversão com o tripeptídeo glutatona (GSH) que contém cisteína. GSH é mais estável à oxidação em comparação com a cisteína e é mantida nos tecidos em concentrações milimolares, com uma redução relativa do potencial redox (JONES *et al.*, 2002).

Por outro lado, a concentração de GSH e glutatona dissulfido (GSSG) no plasma humano é menor que 1% da concentração dos tecidos e, o estado redox do *pool*, neste local, é considerado mais oxidável. Isso é ilustrado pelo fato de que diabéticos e pacientes submetidos a transplante de medula óssea pós-quimioterapia apresentam oxidação aumentada do sistema GSH/GSSG (SAMIEC *et al.*, 1998; JONAS *et al.*, 2000; JONES *et al.*, 2000).

Poucas informações estão disponíveis referentes à cisteína (CyS) e cistina (CySS), que juntas constituem predominantemente o *pool* tiol-dissulfido de baixo peso molecular do plasma humano Cys/CySS. A grande oxidação do *pool* Cys/CySS faz com que ele seja proximal aos eventos do estresse oxidativo (JONES *et al.*, 2000).

Samiec e colaboradores (1998) demonstraram redução dos níveis de glutatona (GSH) em indivíduos idosos (60 anos e mais) com degeneração macular da retina relacionada a idade, nos diabéticos e nos controles em comparação com os indivíduos jovens. No grupo de diabéticos, comparado com os outros grupos de idosos, os níveis foram mais reduzidos.

Jones e colaboradores (2002) realizaram estudo para determinar se o estado redox de glutatona reduzida/glutatona oxidada (GSH/GSSG) e cisteína/cistina (CyS/CySS) no plasma humano sofreria alteração com idade. Os resultados mostraram uma oxidação linear de CyS/CySS com a idade entre 19 e 85 anos. Em contraste, o estado redox de GSH/GSSG não é alterado antes dos 45 anos e posteriormente a oxidação é evidente, aumentando anualmente a taxas de 0,7mV/ano. Os dados demonstram que há um contínuo e linear aumento nos eventos oxidantes durante a vida adulta, mas que a capacidade do sistema antioxidante GSH é mantida até 45 anos e então declina rapidamente. Estes dados sugerem que o estado redox de CyS/CySS e GSH/GSSG proporciona uma maneira de distinguir clinicamente entre aumento de eventos oxidantes e decréscimo da função antioxidante de GSH.

Há evidências de que a depleção de GSH está associada com estados de doença grave. A forte correlação inversa entre níveis plasmáticos e teciduais de GSH e progressão de

doença grave reforça a idéia de que o aumento dos níveis de GSH pela farnonutrição poderia ser benéfico (VALENCIA; MARIN; HARDY, 2001e; GRIMBLE, 2005).

1.5 Glutamina

A glutamina, um eficiente precursor de glutathione, é o aminoácido mais abundante no corpo humano, representando 20% dos aminoácidos livres do plasma e mais de 50% do *pool* de aminoácidos no músculo esquelético humano. É composto de carbono, hidrogênio, oxigênio e nitrogênio, está presente em muitas proteínas e pode ser sintetizada virtualmente por todos os tecidos do organismo. Não é considerado um aminoácido essencial, mas um aminoácido “condicionalmente essencial”, pois em situações de estresse sua concentração no plasma diminui até 50%, estabelecendo um quadro de deficiência (SACKS, 1999; MATILLA *et al.*, 2000; CURI *et al.*, 2005; BONET; GRAU, 2007).

Além das múltiplas reações bioquímicas, participa da manutenção e função de vários órgãos e células como músculos, rins, fígado, intestino, coração, neurônios, linfócitos, macrófagos, neutrófilos, células beta do pâncreas e adipócitos (CURI *et al.*, 2005).

A glutamina é utilizada como combustível para as células e tecidos e é avidamente consumida por células de multiplicação rápida como os enterócitos, fibroblastos e linfócitos (SACKS, 1999; VALENCIA; MARIN; HARDY, 2002b; CURI *et al.*, 2005; CURY-BOAVENTURA *et al.*, 2008). É também o elo entre o metabolismo de carbono dos carboidratos e proteínas e um eficiente precursor de glutathione (GSH) que atua como antioxidante tanto no sistema enzimático constituído de GSH oxidase e redutase quanto no sistema não enzimático (VALENCIA; MARIN; HARDY, 2001b; TAPIERO *et al.*, 2002; GRIMBLE, 2005).

O metabolismo de glicose nas células beta do pâncreas é normalmente acompanhado de síntese e/ou secreção de insulina. A glicose é o substrato mais utilizado e o mais importante indutor de secreção deste hormônio, porém as células beta metabolizam outros substratos, como ácidos graxos e aminoácidos. A glutamina é um dos nutrientes exógenos mais utilizados pelas células beta com o objetivo de manter o gasto energético basal, tanto na presença como na ausência de glicose. O metabolismo da glutamina no pâncreas reduz a utilização de outros nutrientes intracelulares, como os ácidos graxos, e também bloqueia a oxidação de glicose (KREBS, 1980; ELIA, 1993; CURI, 2000).

O peptídeo C é liberado quando ocorre a clivagem da pró-insulina originando a insulina. A importância de sua dosagem está no fato de que é útil para determinar a reserva de

insulina endógena. É secretado em quantidades equimolares com a insulina (1:1), mas apesar disso, a proporção no soro é de aproximadamente 5:1 a 15:1. Isso é explicado pelo fato de que a insulina é rapidamente removida pela sua passagem inicial através do fígado e a extração hepática do peptídeo C é desprezível. O peptídeo C circulante parece não ter qualquer atividade biológica significativa, mas como sua meia vida é cerca de duas a cinco vezes maior que a da insulina a determinação de seus níveis são indicadores mais estáveis da secreção de insulina (HENRY, 1999).

Apesar da glutamina ser um dos principais substratos energéticos no pâncreas (células beta), ela não induz, por si só, a secreção de insulina, mas reduz o consumo de outros nutrientes intracelulares. A combinação de glutamina com outro aminoácido secretagogo não-metabolizável, mas com ação ativadora enzimática, produz secreção do hormônio por utilização de nutrientes intracelulares. Por outro lado, a associação da glutamina com aminoácidos metabolizáveis pode levar à secreção hormonal sem a utilização de nutrientes intracelulares. Evidentemente, muitos outros nutrientes secretagogos pouco estudados interferem nos mecanismos de secreção de insulina. A glutamina estimula a secreção de insulina provavelmente via metabolismo envolvendo o ciclo gama-glutamil, síntese de glutathione e posterior aumento da função mitocondrial (CURI, 2000; CURI *et al.*, 2005).

Uma redução rápida de glutamina é observada no sangue e em tecidos quando estão presentes eventos catabólicos como cirurgia, trauma e sepsis (SACKS, 1999).

A ação da suplementação de glutamina na recuperação de doenças pode ser decorrente do suporte à mucosa intestinal, ao sistema imunológico, biossíntese de glutathione e a um possível efeito na resposta inflamatória endógena. Esses mecanismos devem-se provavelmente à atenuação da produção de mediadores pró-inflamatórios e/ou a regulação de fatores inflamatórios e seu papel na liberação de insulina pelo pâncreas. Devido a essas razões, a glutamina tem sido considerada um agente coadjuvante importante no tratamento de enfermidades que levam a estados hipermetabólicos. Os exemplos são os pacientes com AIDS e câncer que podem se beneficiar com a melhora da função imune, manutenção da integridade da mucosa intestinal e balanço nitrogenado, atenuando os efeitos catabólicos da caquexia. Além disso, os efeitos da glutamina no sistema imune e na barreira intestinal são importantes para a prevenção da septicemia (SHABERT; WILMORE, 1995; CYNOBER, 1997; GAO ZY *et al.*, 1999; CURI, 2000; YOSHIDA *et al.*, 2001; VALENCIA; MARIN; HARDY, 2002b; FUENTES-OROZCO, 2004; CURI *et al.*, 2005; GRIMBLE, 2005).

Os benefícios da utilização de suplementos de glutamina em pacientes críticos são comprovados e bem descritos na literatura (BOZZETTI *et al.*, 1997; GRIFFITHS *et al.*, 1997; YAGI *et al.*, 1997; YOSHIDA *et al.*, 1998; JIANG *et al.*, 1999; CONEJERO *et al.*, 2002; GRIFFITHS *et al.*, 2002; GARCIA DE LORENZO *et al.*, 2003; DECHELOTTE *et al.*, 2006; BONET, GRAU, 2007).

Sacks (1999), em revisão, demonstrou boa tolerância sem efeitos adversos, exceto em grupos específicos de pacientes, tais como doentes renais e neonatos prematuros. Há dúvidas, porém, sobre qual seria a melhor via de administração: se enteral, oral ou parenteral (SACKS, 1999; BONET; GRAU, 2007).

A suplementação de glutamina por via parenteral tem sido amplamente estudada tanto em animais como em humanos (FÜRST; POGAN; STEHLE, 1997; GRIFFITHS *et al.*, 1997; MATILLA *et al.*, 2000; ALVES, 2004; SCHEID *et al.*, 2004). A suplementação por via oral e enteral tem tido a mesma atenção (BOZZETTI, 1997; GARDNER; EARL; WOOD, 1997; YAGI *et al.*, 1998; BOZA, 2000; DANIELE *et al.*, 2001; KHOGALI; PRINGLE; WERYK, 2002; VALENCIA; MARIN; HARDY, 2002b; GARCIA-DE-LORENZO *et al.*, 2003).

A utilização de glutamina via oral em pacientes criticamente enfermos, tem sido pouco estudada devido à limitação das formulações em pó e dos produtos enterais pois, embora quase todas as apresentações destes produtos contenham alguma glutamina, estas estão em quantidades provavelmente insuficientes para estimular os benefícios em comparação com a suplementação parenteral (SACKS, 1999).

A administração via oral em indivíduos saudáveis foi objeto de poucos estudos, mas não foram relatados efeitos adversos em grupo de adultos jovens e de meia idade (ZIEGLER, 1990; CASTELL e NEWSHOLME, 1997; BOZA *et al.*, 2000; KLASSEN *et al.*, 2000; VALENCIA; MARIN; HARDY, 2002; ARWERT; DEIJEN; DRENT, 2003).

Não há informações sobre a segurança da utilização de glutamina, em doses nutracêuticas, na população idosa. Há dúvidas se a sobrecarga de nitrogênio seria adequadamente metabolizada pelos rins e fígado (GARLICK, 2001).

1.6 Uso de substâncias antioxidantes

A utilização de substâncias antioxidantes com o objetivo de melhorar a qualidade de vida dos indivíduos e prevenir doenças, mesmo com subsídios oriundos da pesquisa básica, ainda permanece sob julgamento até o momento, pois não há resultados clínicos definitivos

que justifiquem o seu uso (ALMADA FILHO, 2002; WESSNER *et al.*, 2003, OLAGNERO *et al.*, 2007a).

Os alimentos funcionais são definidos como produtos contendo em sua composição alguma substância biologicamente ativa que, ao ser incluída numa dieta usual, modula processos metabólicos ou fisiológicos, resultando em redução do risco de doenças e manutenção da saúde. Esta substância é denominada de nutracêutico. Doses nutracêuticas são doses que excedem a dose normal de exposição a esse agente na alimentação (OLAGNERO *et al.*, 2007a, 2007b).

Na imunonutrição, nutrientes são fornecidos em doses supranormais para que ocorra efeito “farmacológico” de um ou mais componentes. Diversos nutrientes são potencialmente considerados imunonutrientes, como os ácidos graxos ômega-3, arginina e a glutamina (GRIMBLE, 2005).

Apesar do grande volume de pesquisas nesta área, há dúvidas sobre os efeitos benéficos definitivos da imunonutrição. Isto se deve ao fato de que historicamente o que vem sendo feito é a combinação de vários nutrientes em populações heterogêneas. É plausível que alguns nutrientes testados individualmente em doses aleatórias apresentem ou não benefícios em alguns grupos de pacientes, mas quando combinados e/ou administrados a populações heterogêneas o efeito pode ser perdido. O novo paradigma a ser implantado é a utilização de suplementos individualizados para definir tempo, dose e via de administração para avaliação real do benefício (JONES; HEYLAND, 2008).

Até o momento, há dúvidas sobre qual é a melhor forma de aumentar os níveis de GSH nos tecidos e no plasma, se ingerindo compostos ricos em glutathione - GSH na forma de sal sódico, ester de GSH (ester etil gama-glutamil-cisteína) - ou ingerindo compostos ricos em precursores tais como: glutamato, glutamina, cisteína, metionina, N-acetil cisteína e ácido 1-2 oxotizolidina-4-carboxil (VALENCIA; MARIN; HARDY, 2001a, 2001e).

A importância da realização deste estudo está no fato de que contribuirá com informações para a questão do estresse oxidativo no envelhecimento, para a avaliação da possibilidade de recuperação da capacidade antioxidante do organismo com suplementação de substrato de antioxidantes (glutamina), e também pelo fato de que não há na literatura consultada, até o momento, trabalhos com indivíduos de meia-idade e idosos que avaliem a segurança e a eficácia ou não desta suplementação por via oral.

A pergunta que necessita de resposta é: a suplementação de L-glutamina via oral, em doses nutracêuticas, poderia melhorar o estado de oxidoredução do sistema GSH, alterado com o processo do envelhecimento?

2 OBJETIVO

Objetivo geral

- Avaliar os efeitos sobre o estresse oxidativo da suplementação oral de L-glutamina, em doses nutracêuticas, em indivíduos de meia-idade e idosos.

Objetivos específicos

- Avaliar a segurança da suplementação oral de L-glutamina mediante análise das funções hematológica, hepática e renal.
- Avaliar o efeito da suplementação oral de L-glutamina na capacidade de antioxidação do sistema glutathione.
- Avaliar o efeito da suplementação oral de L-glutamina na peroxidação lipídica.
- Identificar o impacto da suplementação oral de L-glutamina sobre a via glicolítica e secretagoga de insulina.
- Verificar a associação da capacidade antioxidante do sistema glutathione e idade com a suplementação de L-glutamina.

3 MÉTODO

3.1 Tipo de estudo

Estudo prospectivo, randomizado, controlado, duplo-cego, cruzado.

3.2 Local do estudo

Instituição de Longa Permanência “Lar Torres de Melo”, situada à Rua Júlio Pinto, nº 1832, no bairro Jacarecanga, na cidade de Fortaleza – Ceará.

3.3 Participantes

Após avaliação clínica, funcional, cognitiva e nutricional realizadas em 207 indivíduos residentes na instituição, foram selecionados 32 indivíduos lúcidos, que aceitaram participar do estudo e que preencheram os critérios de inclusão.

3.3.1 Critérios de inclusão

Indivíduos de ambos os sexos, na faixa etária de 45 anos e mais e que não apresentaram nenhum dos critérios de exclusão definidos abaixo.

3.3.2 Critérios de exclusão – Protocolo SENIEUR

O presente estudo, denominado de Suplementação Oral de Glutamina para Indivíduos de Meia Idade e Idosos (SOGI), utiliza a base teórica do Protocolo SENIEUR do *European Community's Concerted Action Program on Ageing* (EURAGE) (LIGTHART *et al.*, 1984) com objetivo de estabelecer um parâmetro validado de seleção da amostra. O Protocolo SENIEUR foi criado para definir critérios de seleção para admissão de indivíduos em estudos imunogerontológicos numa tentativa de padronização dos indivíduos.

O Protocolo SENIEUR exige que sejam coletadas informações quanto à idade, sexo, raça, peso e altura, gravidez, cirurgia, transfusão sanguínea, uso de drogas, tabagismo, etilismo, hábitos alimentares, profissão, condições de vida, atividades diárias de vida. Exame físico completo deve ser realizado. Todos esses dados foram coletados em fichas específicas: uma ficha para seleção da amostra (APÊNDICE A) e outra para detalhamento das características dessa amostra (APÊNDICE B).

Para avaliação de tabagismo foi utilizado o teste de Fagerstrom (VIEGAS, 2004), e para avaliação de alcoolismo foi aplicado o teste de CAGE (MASUR; MONTEIRO, 1983).

A atividade física foi avaliada pelo *International Physical Activity Questionnaire* (IPAQ) na versão curta (INTERNATIONAL PHYSICAL ACTIVITY QUESTIONNAIRE - IPAQ, 2002; BARETTA; BARETTA; PERES, 2007).

O protocolo agrupa os critérios de exclusão em três itens: A - Informações clínicas; B - Dados laboratoriais; C - Interferência farmacológica.

No presente estudo foram feitas algumas adaptações do Protocolo SENIEUR devido às diferenças entre as duas propostas. Além disso, o tempo transcorrido entre os dois projetos trouxe atualizações decorrentes de novas pesquisas realizadas entre os momentos, o que justifica adaptações.

A comparação entre as propostas, SENIEUR e o presente trabalho, contempla critérios onde as duas encontram-se compatíveis (legenda 1 dos Quadros 1 e 2) além de outros critérios onde as duas apresentam diferenças de objetivos e por isso diferentes critérios são utilizados (legenda 2 dos Quadros 1 e 2). Em outros critérios foi necessário realizar atualizações dos conhecimentos de 1984, momento de implantação do Protocolo SENIEUR, para 2006, início do presente trabalho (legenda 3 dos Quadros 1 e 2).

Foram definidos como indivíduos de meia idade aqueles com 45 e mais anos de idade e menos de 60 anos. Já os idosos por definição eram aqueles com 60 e mais anos de idade (WHO, 1984).

No quadro 1 são comparados os critérios de exclusão do Protocolo SENIEUR com o estudo em questão.

A explicação e a justificativa para cada critério de exclusão no Projeto SOGI são definidas a seguir:

A - Informações clínicas

A.1 - Infecções: bacterianas, micótica, viral, clamídia, rickettsia e infecção parasitária. O seguimento por duas semanas é importante para observar se a seleção não foi feita durante o período de incubação de uma doença. Se o indivíduo apresenta alguma infecção que é passível de tratamento, deverá ser tratada e o indivíduo poderá ser admitido no estudo após um período de no mínimo seis semanas;

A.2 - Inflamação: aguda ou crônica: doenças do colágeno (artrite reumatóide, lupus eritematoso sistêmico, etc), doença de Crohn. Dados revelados pela história exame físico e exames laboratoriais;

QUADRO 1 – Critérios de exclusão utilizados no Protocolo SENIEUR para admissão de indivíduos em estudos imunogerontológicos e sua disponibilidade no estudo SOGI

Critérios de exclusão	Presente no SENIEUR	Presente no SOGI	Justificativas
Clínicos			
Infecção	sim	sim	(1)
Inflamação	sim	sim	(1)
Neoplasias	sim	sim	(1)
Manifestação de aterosclerose se o evento agudo (IAM, AVC ou recanalização de artéria femural) ocorreu há < 6 meses e se os medicamentos utilizados para evento agudo influenciam o sistema imune e não podem ser suspensos	sim	sim	(1)
Insuficiência cardíaca	sim	sim	(1)
Hipertensão arterial	não	não	(1)
Hipertensão arterial associada à alteração renal	sim	sim	(1)
Demência	sim	sim	(1)
Gravidez incluindo seis meses de pós-parto	sim	sim	(1)
Desnutrição	sim	sim	(1)
Alcoolismo	sim	sim	(1)
Abuso de drogas	sim	sim	(1)
<i>Diabetes mellitus</i>	sim	sim	(1)
Hipotireoidismo clínico e subclínico	não	sim	(3)
Obesidade classe III	não	sim	(3)
Depressão em remissão	não	não	(1)
Disfunção cognitiva sem caracterizar demência	não	sim	(3)
Laboratoriais	veja Quadro 2		
Farmacológicos			
Medicamentos para tratamento de doença definida	sim	não	(2)
Medicamentos que sabidamente interferem no sistema imunológico	sim	sim	(1)

(continua)

QUADRO 1 – Critérios de exclusão utilizados no Protocolo SENIEUR para admissão de indivíduos em estudos imunogerontológicos e sua disponibilidade no estudo SOGI

(continuação)

Critério de exclusão	Presente no SENIEUR	Presente no SOGI	Justificativas
Vacinação nos últimos 6 meses	sim	sim	(1)
Ervas medicinais	não	sim	(3)
Vitaminas sintéticas	não	sim	(3)
Suplemento alimentar	não	sim	(3)

Fonte: Lighthart, G. *et al*, *Mechanisms of Ageing and Development*, 1984.

Nota:

Legenda das justificativas:

(1) - compatível com objetivos das duas propostas;

(2) - as duas propostas apresentam diferença de objetivos e por isso apresentam diferentes critérios;

(3) - atualização dos critérios diagnósticos de 1984 (Protocolo SENIEUR), para 2006 (Projeto SOGI).

A.3 - Neoplasias: neoplasia maligna ou tumores *borderline* que não podem ser classificados como benignos; distúrbios linfoproliferativos, principalmente Mieloma múltiplo e Macroglobulinemia de Waldenström.

A.4 - Outras condições que influenciam o sistema imune, principalmente as definidas abaixo:

A.4.a - Infarto do miocárdio, acidente vascular cerebral, insuficiência vascular periférica: não será critério de exclusão se o evento agudo ocorreu há mais de 6 meses, se as medicações não interferem no sistema imune ou podem ser suspensas temporariamente;

A.4.b - Insuficiência cardíaca: se não há necessidade de medicação apenas controlada com dieta não há necessidade de exclusão;

A.4.c - Hipertensão arterial: não é critério de exclusão, exceto se existir alteração da função renal (alteração da uréia, proteinúria, etc);

A.4.d - Demência: devido à dificuldade de informações precisas;

A.4.e - Gravidez: incluindo até 6 meses do pós-parto;

A.4.f - Desnutrição: definido pelo índice de Quetelet (IMC) < 18,5;

A.4.g - Alcoolismo e abuso de drogas: sendo o alcoolismo definido pelos critérios de CAGE (MASUR; MONTEIRO, 1983).

A.4.h - Hipotireoidismo clínico e subclínico: devido às alterações metabólicas que ocorrem nestes quadros;

A.4.i - Obesidade Classe III: devido às importantes alterações metabólicas que ocorrem neste quadro;

A.4.j - Disfunção cognitiva significativa sem caracterizar demência: devido à dificuldade de obter informações precisas.

B - Dados laboratoriais, devendo ser observados os parâmetros para idade (Quadro 2):

B.1 - Hemograma completo: a realização do hemograma completo fornece melhores informações e atualmente tecnicamente são simples de serem realizados todos os parâmetros. A velocidade de hemossedimentação (VHS) tem pouca validade na triagem de pacientes assintomáticos para estados de doença e é de valor muito limitado na população idosa. Desta forma, esta avaliação não foi realizada (HENRY, 1999).

B.2 - Bioquímica:

B.2.1 Uréia: parâmetro de alteração mais precoce na avaliação da função renal tem papel importante principalmente relacionado à suplementação de aminoácidos e proteínas.

B.2.2 Creatinina: apesar das limitações na idade avançada é um parâmetro importante de avaliação e os dados são utilizados no cálculo da estimativa do Ritmo de Filtração Glomerular (COCKCROFT; GAULT, 1976).

B.2.3 Glicemia de jejum: para diagnóstico de *diabetes mellitus* e avaliação do impacto da suplementação sobre a via glicolítica e ação secretagoga de insulina;

B.2.4 Fosfatase alcalina e transaminases são parâmetros importantes para avaliação da integridade do parênquima hepático;

B.3 - Eletroforese de proteínas: importante exame para avaliação de desordens linfoproliferativas e albumina para o acompanhamento, já que será realizada suplementação de proteína;

B.4 - Urinálise: avaliação da presença de proteína, glicose e sedimento, parâmetros de avaliação da função renal, além de exclusão de infecção urinária.

C - Interferência farmacológica

C.1 - Medicação prescrita para o tratamento de doença definida, devendo ser observada a gravidade da doença. Aqui foram permitidos casos de hipertensão arterial desde que não apresentassem comprometimento da função renal e que as drogas utilizadas no tratamento não interferissem no sistema imunológico de maneira significativa, e casos de depressão em tratamento que estavam em remissão.

QUADRO 2 – Dados laboratoriais utilizados no Protocolo SENIEUR para admissão em estudos imunogerontológicos e sua disponibilidade no Estudo SOGI.

Dados laboratoriais	Utilizado no SENIEUR	Utilizado no SOGI	Justificativa
VHS	sim	não	(2)
Hemoglobina	sim	sim	(1)
Hematócrito	não	sim	(3)
VCM	sim	sim	(1)
Contagem total de leucócitos e diferencial	sim	sim	(1)
Contagem de plaquetas	não	sim	(3)
Uréia	sim	sim	(1)
Creatinina	não	sim	(3)
Glicemia jejum	sim	sim	(1)
Glicemia pós-prandial	sim	não	(2)
Fosfatase alcalina	sim	sim	(1)
AST	sim	sim	(1)
ALT	sim	sim	(1)
TSH	não	sim	(3)
Eletroforese proteínas	sim	sim	(1)
Sumário de urina	sim	sim	(1)

Fonte: Lighthart, G. et al, *Mechanisms of Ageing and Development*, 1984 (Modificado).

Nota:

Legenda das justificativas:

(1) - compatível com objetivos das duas propostas;

(2) - as duas propostas apresentam diferença de objetivos e por isso apresentam diferentes critérios;

(3) - atualização dos critérios diagnósticos de 1984, momento da publicação do Protocolo SENIEUR, para 2006, início do estudo Suplementação de Glutamina (SOGI).

C.2 - Medicação que sabidamente influencia o sistema imune: antiinflamatórios não hormonais, corticosteróides, analgésicos, imunossupressores e imunoestimulantes, hipolipemiantes. Se a medicação pôde ser suspensa, o indivíduo foi incluído no estudo. Vacinação: foi permitido até seis semanas antes do exame.

C.3 - Indivíduos em uso de suplemento alimentar ou vitaminas sintéticas, devido às características do estudo, para que não haja interferência;

C.4 - Indivíduos em uso de fitoterápicos e chás com fins terapêuticos devido à possibilidade de interferência no sistema imunológico de maneira significativa.

C.5 - Anticoagulantes orais: utilizado este parâmetro de exclusão devido a risco de alteração na absorção do medicamento, o que poderia causar intercorrências clínicas.

Após esclarecimento e assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (APÊNDICE C), os participantes foram reavaliados pelo pesquisador (Geriatra) na própria instituição quando foi realizado questionário direcionado (APÊNDICE B).

3.3.3 Critérios de retirada

Intercorrências clínicas que necessitaram uso de medicação, ou o desejo do paciente.

3.4 Suplementos utilizados

Foram utilizados Caseinato de cálcio[®] (Kerry do Brasil Ltda - Três Corações – MG-Brasil): proteína de leite em pó tratada com monoleato de glicerila de grau alimentício; e L-Glutamina[®] (Ajinomoto Interamericana Indústria e Comércio Ltda – São Paulo - São Paulo - Brasil) na forma de cristais de pó cristalino branco (ANEXO A).

Apesar das dificuldades que poderiam ocorrer com a utilização de L-glutamina, devido à instabilidade na esterilização, à estocagem prolongada e à solubilidade limitada, esses problemas foram contornados com o preparo à temperatura ambiente e ingestão imediata.

3.5 Desenho do estudo (Figura 3)

3.5.1 Método de mascaramento

O material para suplementação foi separado em empresa especializada, por engenheira de alimentos (não envolvida diretamente no cuidado dos pacientes), único profissional que manuseou a suplementação e que tinha conhecimento do conteúdo de cada frasco. Após pesagem, foi acondicionado em frascos plásticos brancos, opacos, lacrados e identificados com o nome dos pacientes.

3.5.2 Método de randomização

Foi feito mediante geração de números aleatórios pelo site: <<http://www.graphpad.com/quickcalcs/RandMenu.cfm>>. O processo de randomização seguiu o procedimento do *Concealment* - nem o pesquisador, nem o participante, nem outra pessoa envolvida diretamente no cuidado do paciente soube a que grupo pertencia o paciente.

3.5.3 Grupos experimentais

Os participantes foram randomicamente alocados em 2 grupos: Grupo 1 (G1) e Grupo 2 (G2), sendo que o Grupo 1 recebeu L-glutamina uma vez ao dia e o Grupo 2 recebeu caseinato de cálcio também uma vez ao dia.. No segundo tempo do estudo, após a pausa

temporal, houve a inversão da suplementação: o Grupo 1 recebeu caseinato de cálcio e o Grupo 2 recebeu L-glutamina em quantidade e preparo semelhantes ao primeiro tempo.

Posteriormente, para análise estatística, foram considerados como grupo Glutamina todos os indivíduos que receberam suplementação de L-glutamina no primeiro ou no segundo tempos e grupo Caseinato todos os indivíduos que receberam suplementação de caseinato de cálcio no primeiro ou no segundo tempos.

Foram considerados: T0 (tempo zero), o tempo prévio à suplementação e T1 (tempo um), o tempo pós-suplementação, tanto de glutamina quanto de caseinato.

3.5.4 Intervenção

Após a seleção os indivíduos participantes do estudo:

1. Foram orientados a manter os seus hábitos de vida durante todo o período de suplementação. Deveriam manter a atividade física e alimentação habitual, ou seja, não poderiam iniciar dietas ou regimes e tampouco, suspender ou iniciar atividade física durante o período do estudo.
2. Não poderiam utilizar durante o estudo as medicações listadas nos critérios de exclusão. No caso da necessidade de uso de algumas dessas substâncias, o indivíduo foi desligado do estudo.
3. O preparo do leite em pó foi feito com Leite Ninho[®] (Nestlé Brasil Ltda), água mineral Indaiá[®] (Grupo Edson Queiroz), à temperatura ambiente e açúcar granulado Estrela[®] (LDC Bioenergia S.A.). A mistura com o produto da suplementação (L-glutamina e caseinato de cálcio) foi realizada por duas funcionárias, adequadamente treinadas, utilizando dois liquidificadores. A suplementação com o leite foi oferecida aos participantes pela manhã, sempre no mesmo horário todos os dias, em copos descartáveis opacos de 300mL. O material para suplementação estava acondicionado em frascos plásticos brancos, opacos, protegidos da umidade e com a identificação dos pacientes.
4. Os participantes foram randomicamente alocados para 2 grupos: Grupo 1 (G1) e Grupo 2 (G2), sendo que o Grupo 1, composto por 14 indivíduos, recebeu 0,5 g/Kg de L-glutamina ao dia em uma tomada e o Grupo 2, composto por 16 indivíduos, recebeu 0,5 g/Kg de caseinato de cálcio também em uma tomada de modo que, a suplementação se fizesse isocalórica, isoprotéica em ambos os grupos por um período de 14 dias. Após uma pausa temporal (*washout period*) de cinco dias tomando apenas leite em pó sem suplementação, houve a inversão da suplementação e o Grupo 1 (G1) recebeu caseinato de cálcio e o Grupo 2 (G2)

recebeu L-glutamina em quantidades e preparo semelhantes ao primeiro tempo durante 14 dias.

5. A suplementação era oferecida imediatamente após o preparo e o indivíduo só se retirava do recinto após ingestão da suplementação.
6. Durante o período de suplementação, os indivíduos eram indagados sobre a manifestação de alguma intercorrência e em caso de resposta afirmativa, eram encaminhados para avaliação pelo pesquisador no mesmo dia.
7. As coletas laboratoriais foram feitas nos tempos descritos em 3.5.5 e realizadas com os indivíduos em jejum mínimo de 8 horas. Foram coletados de cada paciente 22 mL de sangue (na própria instituição) por dois técnicos de laboratório, experientes e treinados.

3.5.5 Tempos avaliados

As coletas foram feitas no primeiro tempo no 1º dia (T0), no 15º dia (T1) e após um período de 5 dias de pausa temporal (*washout period*) iniciou-se o segundo tempo em que as coletas foram feitas novamente no 1º dia de suplementação da segunda fase (20º dia do estudo) (T0) e no 15º dia (34º dia do estudo) (T1).

3.6 Desfechos clínicos

Primários: avaliação dos efeitos da suplementação via oral de L-glutamina sobre o estresse oxidativo: dosagem de Glutathione Total, cálculo da razão GSH/GSSG, dosagem de TBARS (substância reativa ácido tiobarbitúrico), cálculo do potencial redox pela equação de Nerst.

Secundários: 1. Avaliação da segurança do uso de suplemento via oral de L-glutamina: dosagem de hemograma, uréia, creatinina, glicemia, asparatato-transaminase, alanina-trasaminase, fosfatase alcalina, lactato-desidrogenase, lactato, albumina, pré-albumina, amônia e cálculo da estimativa de Ritmo de Filtração Glomerular. 2. Avaliação do impacto sobre a via glicolítica e secretagoga de insulina: dosagem de glicemia, insulina, peptídeo C. 3. Avaliação da associação da capacidade antioxidante do sistema glutathione e idade.

3.7 Avaliação e acompanhamento laboratorial

Os exames foram realizados no Laboratório Evandro Chagas (ANS 2529157) e no Laboratório de Diagnóstico do Setor de Parasitologia do Departamento de Patologia e Medicina Legal da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará.

Foram utilizados *kits* específicos para cada dosagem conforme definido abaixo e os parâmetros avaliados foram divididos em 3 áreas:

I - Parâmetros para avaliação do indivíduo e segurança da suplementação: hemograma (analisador automático ABX Pentra 60) (HENRY, 1999), uréia (Método: Natelson, Scott e Befá) e creatinina (automação RA-XT *Technicon*) (BURTIS; ASHWOOD, 1994), glicemia de jejum (Método Hexoquinase – RA-XT) (TRINDER, 1969), aspartato-transaminase (AST) e alanina-transaminase (ALT) (Método: Cinética UV-IFCC) (GELLA *et al.*, 1985), albumina (Método Biureto-Gornall, Bardawill-David) (TIETZ, 1991), pré-albumina (Nefelometria) (HENRY, 1999), eletroforese de proteínas (Sistema *Hydrasys-Sebia X BTS 235 Biosystem*) (BURTIS; ASHWOOD, 1994), fosfatase alcalina (FA) (Método: Bowers e McComb modificado-Automação RA-XT *Technicon*) (IFCC, 1983), Lactato (Método: Enzimático Colorimétrico) e Lactato Desidrogenase (LDH) (Método: Piruvato-Lactato) (TIETZ, 1991), amônia (Método: Enzimático Automatizado) (VAN ANKEN; SCHIPHORST, 1974), hormônio tireoestimulante (TSH) (Método: Quimioluminescência-*Access Immunoassay System*) (WHITE, 1987) e sumário de urina (FREE; FREE, 1972).

Esses exames foram realizados na coleta prévia à suplementação para a confirmação do estado de saúde do indivíduo e para avaliação da segurança e, com exceção da dosagem do TSH, da eletroforese de proteínas e do sumário de urina, foram repetidos em cada etapa para o acompanhamento. Dosagem de amônia foi realizada apenas na última coleta.

Foi calculada a estimativa do Ritmo de Filtração Glomerular (eRFG) pela fórmula de Cockcroft-Gault (COCKCROFT; GAULT, 1976):

$$eRFG = \frac{(140 - \text{idade}) \times \text{peso(Kg)} \times (0,85, \text{ se mulher})}{72 \times \text{creatinina sérica}}$$

Valores de referência normais:

- Hematócrito: 36-54%
- Hemoglobina: 13,5-18,0g/dL

- Leucócitos: 4.000-10.000 x 10⁶/μL
- Linfócitos: 20-50%
- Uréia: 15-40mg/dL
- Creatinina: 0,40-1,30mg/dL
- eRFG: > 90mL/min
- Glicose: 70-99mg/dL
- Alanina-transaminase: 11,0-39u/L
- Aspartato-transaminase: 11,0-39u/L
- Fosfatase alcalina: 27-100UI/L
- LDH: 200-480 U/L
- Lactato: 0,5-2,2mmol/L
- Amônia: 11,0-35,0 umol/L

II - Parâmetros para avaliação da capacidade antioxidante: dosagem de Glutathione total (Método: qualitativo colorimétrico – *Byoxytech*[®] GSH-420 Assay-Catálogo Oxis n° 21023) (MEISTER; ANDERSON, 1983) (ANEXO B), cálculo da razão GSH/GSSG (Método: colorimétrico – *Byoxytech*[®] GSH/GSSG – 412 Assay - Catálogo Oxis n° 21040) (TIETZE, 1969) (ANEXOS B e C) e dosagem de TBARS (substância reativa ácido tiobarbitúrico) (Método: colorimétrico - *The Cayman*[®] Chemical TBARS Assay - Catálogo n° 10.009.055), para avaliação da peroxidação de lipídeos (OHKAWA; OHISHI; YAGI, 1979; DRAPER *et al.*, 1993; ARMSTRONG; BROWNE, 1994; YAGI, 1998) (ANEXO B).

A Glutathione Total dosada (*Byoxytech*[®] GSH-420 Assay) que se encontra na forma reduzida (GSH) inclui toda a glutathione livre e as outras formas ligadas, os chamados dissulfidos, tais como glutathione-cisteína. Como a quantidade de glutathione ligada é considerável, principalmente na glutathione presente nas células, autores a definem como “glutathione celular total” (SIES, 1999).

A glutathione oxidada (GSSG) (*Byoxytech*[®] GSH/GSSG – 412 Assay) foi dosada diretamente, bem como a “glutathione total” (GSht) que é utilizada na fórmula do cálculo da glutathione reduzida (GSH). Ou seja: a fórmula é definida como: $GSht = GSH + 2GSSG$. Desta forma, inferimos que: $GSH = GSht - 2GSSG$ que é o cálculo realizado no método utilizado (ANEXO B).

Foi realizado o cálculo do Potencial redox (E_h) da dupla GSH/GSSG pela Equação de Nerst (O'CONNOR, 1977; MASTERTON, 1978).

A Equação de Nerst é definida como: $E_h = E_0 - (RT/nF) \ln Q$, sendo:

- GSH é a glutathiona na sua forma reduzida.
- GSSG é a glutathiona na sua forma oxidada também chamada de glutathiona dissulfido.
- GSH e GSSG têm suas concentrações expressas em molaridade.
- E_0 = potencial padrão apropriado para o pH. Neste caso foi -264mV.
- R = constante dos gases = 8,3144 Jabs/Kmol.
- T = temperatura absoluta (25° C) em graus kelvin = 298,16K.
- n = número de elétrons exigidos pela equação balanceada, neste caso n = 2.
- F = constante de Faraday = 96.485,3 J abs/V abs.eq-g.
- ln = logarítmo neperiano.
- Q = “quociente de atividade” na forma de uma expressão de constante de equilíbrio, no caso $[\text{dissulfido}]/[\text{tiol}]^2 = ([\text{GSSG}]/[\text{GSH}]^2)$.

III - Parâmetros para avaliação do impacto sobre via glicolítica e ação secretagoga de insulina: dosagem de glicemia de jejum (Método Hexoquinase – RA-XT) (TRINDER 1969), dosagem de insulina (Método: Quimioluminescência - *Access*) e dosagem de peptídeo C (Método: Quimioluminescência) (HENRY, 1999).

3.8 Análise estatística

Os dados foram coletados nas fichas específicas e foi realizada compilação utilizando programa Epiinfo versão 6 e planilha eletrônica do Excel (versão XP).

As variáveis quantitativas foram, inicialmente, analisadas pelo teste de Kolmogorov-Smirnov para verificar a normalidade da distribuição. Para a estatística descritiva, calcularam-se a média e o desvio padrão (dados paramétricos) ou a mediana e intervalo interquartil (dados não paramétricos). Comparações intergrupos (Glutamina *versus* Caseinato) em cada tempo, assim como comparações intragrupo, antes e após o tratamento, foram realizadas mediante o uso do teste *t* para variáveis emparelhadas (dados paramétricos) ou do teste de Wilcoxon (variáveis não paramétricas) (ARMITAGE; BERRY, 1994; MOTULSKY, 1995).

O grau e o sinal da correlação linear entre a idade e a estimativa do Ritmo de Filtração Glomerular (eRFG) foram avaliados pelo coeficiente de correlação de Pearson. A equação da reta que representa o relacionamento funcional entre a idade e eRFG foi obtida por regressão linear (ARMITAGE; BERRY, 1994; MOTULSKY, 1995).

Em todos os casos, estabeleceu-se em 0,05 (5%) a probabilidade α do erro tipo I (nível de significância), sendo considerado como estatisticamente significativo um valor P bicaudal menor que 0,05.

O *software GraphPad Prism*[®] versão 5.00 para *Windows*[®] (*GraphPad Software*, San Diego, California, USA, 2007) foi utilizado tanto para a realização dos procedimentos estatísticos como para a elaboração dos gráficos.

3.9 Aspectos éticos

O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal do Ceará – ofício n° 382/05 – protocolo COMEPE n° 164/05 (ANEXO C) e autorizado pela administração e corpo técnico da Instituição. O estudo foi conduzido em conformidade com a legislação brasileira (Resolução 196/96 do CNS-MS) e com a Declaração de Helsinque e revisões posteriores.

Todos os participantes foram esclarecidos sobre sua participação no estudo e assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (APÊNDICE C).

3.10 Financiamento

O presente estudo foi financiado pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) – Ministério de Ciência e Tecnologia – processo n° 505304/04 e os pesquisadores receberam suporte financeiro da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), Ministério da Educação.

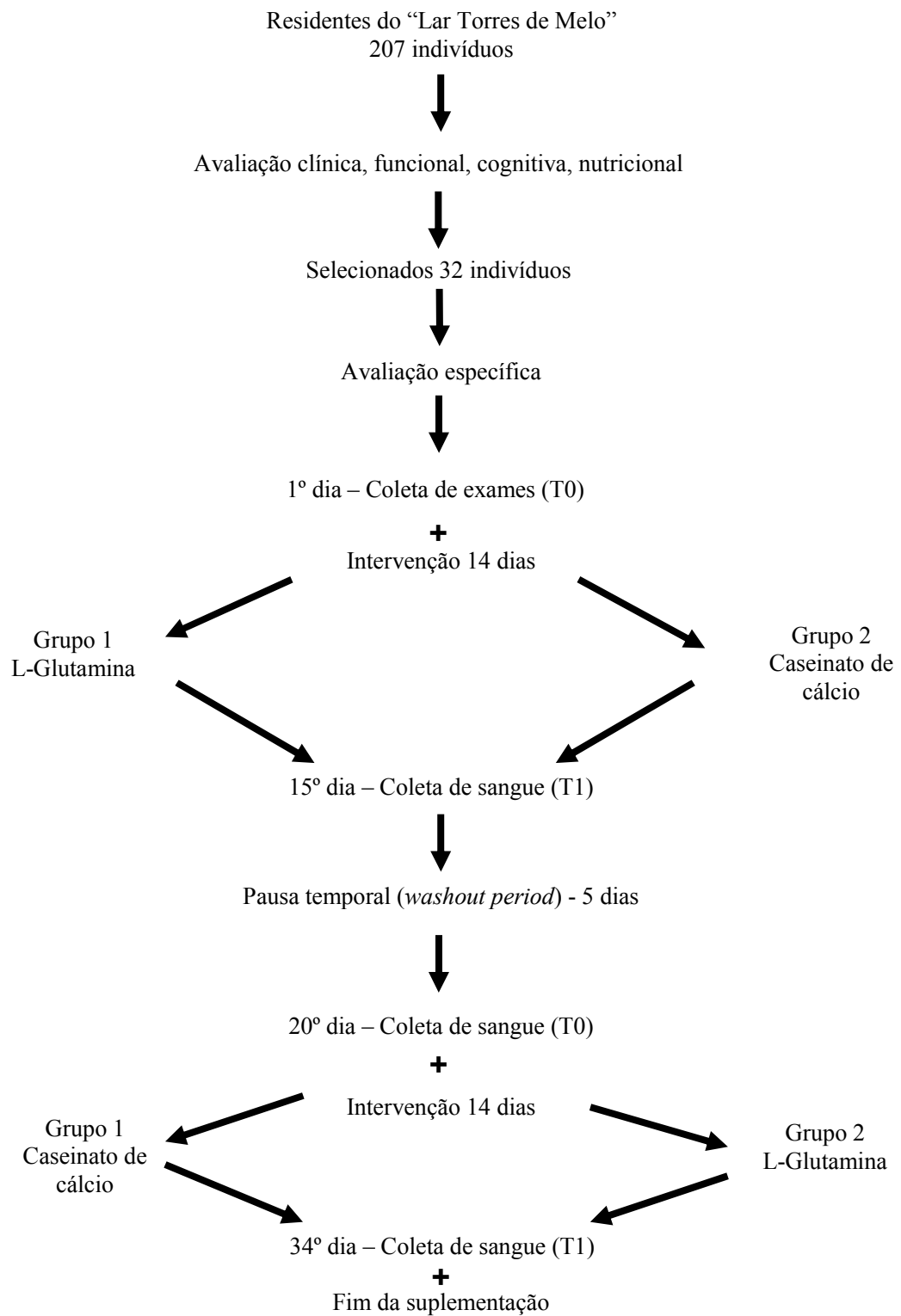


FIGURA 3 – Desenho do estudo

4 RESULTADOS

Após avaliação de 207 indivíduos, foram selecionados 32 voluntários que aceitaram participar do estudo, preencheram os critérios de inclusão e assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

Dos 32 indivíduos que iniciaram o estudo, um foi excluído no 13º dia, pois sofreu ferimento no braço após traumatismo, necessitando uso de antiinflamatório. Um outro paciente decidiu retirar-se do estudo na 3ª coleta (20º dia).

4.1 Características dos participantes do estudo

O grupo de 30 indivíduos restantes era composto na maioria por homens, (16 indivíduos - 53,3%), com idade média de $69 \pm 8,8$ anos, tendo o mais jovem 47 anos e o mais velho 84 anos. Grande parte dos indivíduos encontrava-se na faixa etária de 65-74 anos (50%). A distribuição quanto à raça mostrou predominância da raça branca (15 indivíduos - 50%). Separação informal ou judicial foi o estado civil predominante (15 indivíduos - 50%), sendo 11 (36,7%) não judicialmente, 2 (6,7%) desquitados e 2 (6,7%) divorciados. A maioria era católica, 24 indivíduos (80%) e 22 escolarizados (73,3%) (Tabela 1).

Em relação aos hábitos de vida, a minoria era fumante, 7 indivíduos (23,3%), sendo que apenas 3 (10%) apresentavam dependência grave, segundo o teste de Fagerstrom (VIEGAS *et al.*, 2004). Apenas 2 (6,7%) utilizavam bebida alcoólica, ocasionalmente. A atividade física, avaliada pelo *International Physical Activity Questionnaire* (IPAQ, 2002), mostrou o predomínio de sedentários (13 indivíduos - 43,3%) (Tabela 1).

Dos indivíduos avaliados, 28 (93,3%) consumiam exclusivamente alimentos fornecidos pela instituição.

O peso médio foi de $61,8 \pm 14,2$ Kg e os níveis de albumina no sangue $4,0 \pm 0,3$ g/dl.

Houve poucas intercorrências clínicas: um paciente apresentou diarreia no período de pausa temporal (*washout period*) em que utilizava apenas leite, com melhora após dieta e suspensão do leite por um dia. Uma paciente, que estava em tratamento psiquiátrico e com quadro depressivo em remissão, apresentou crise de ansiedade devido a problemas familiares, melhorando com aumento do ansiolítico que já vinha fazendo uso.

TABELA 1 – Perfil dos participantes do estudo

Parâmetro	n	%
Idade		
45-54	2	6,7
55-64	6	20,0
65-74	15	50,0
75-84	7	23,3
Gênero		
Masculino	16	53
Feminino	14	47
Raça		
Branca	9	30,0
Preta	3	10,0
Amarela	2	6,7
Parda	15	50,0
Indígena	1	3,0
Estado civil		
Casado ou união consensual	1	3,3
Desquitado ou separado judicialmente	2	6,7
Divorciado	2	6,7
Viúvo	7	23,3
Solteiro	7	23,3
Separado	11	36,7
Religião		
Católica	24	80,0
Evangélica	5	16,7
Espírita	1	3,3
Escolaridade		
Escolarizado	22	73,3
Analfabeto	8	26,7
Tabagismo		
Fumantes	7	23,3
Não fumantes	23	76,7
Atividade física (IPAQ)		
Sedentário	13	43,3
Insuficiente ativo A	7	23,3
Insuficiente ativo B	2	6,7
Ativo	7	23,3
Muito ativo	1	3,3
Uso de medicação		
Antihipertensivo	7	23,3
Antidepressivo	7	23,3
Antipsicótico	6	20,0
Ansiolítico	4	13,3

2 Avaliação da segurança

Não houve nenhum efeito clínico adverso nos pacientes durante a utilização de L-glutamina na dose preconizada no estudo (0,5g/Kg/dia).

Não houve alteração clinicamente significativa em nenhum dos parâmetros laboratoriais avaliados exceto em relação aos níveis de uréia (Tabela 2).

TABELA 2 – Valores da média e desvio padrão (ou mediana e intervalo interquartil) dos diversos parâmetros avaliados, referentes aos grupos caseinato e glutamina, obtidos nos tempos T0 e T1.

Parâmetros	Caseinato de cálcio		L-glutamina	
	T0	T1	T0	T1
Hematócrito ¹ (36-54 %) ¹⁴	39.81±5.24	38.64±3.95	39.80±4,41	38.76±3.95
Hemoglobina ² (13.5-18.00 g/dL)	13.45±1.42	13.02±1.42	13.41±1.46	13.09±1.40
Leucócitos ³ (4.000-10.000 x10 ⁶ /μL)	7.16±2,62	7.66±2,45	6.95±2,03	7.31±2,32
Linfócitos ⁴ (800-5000)	1938.53±678,54	2376.30±796.64	2025.67±728.62	2439.03±845.47
Linfócitos ⁵ (20-50%)	28.56±9.66	31.33±9.34	29.83±9.09	33.26±10.02
Uréia ⁶ (15-40 mg/dL)	33.03 ± 8.69	43.07 ± 11.73	34.10 ± 9.12	44.20 ± 8.83
Creatinina ⁷ (0.40-1.30 mg/dL)	0.96 ± 0.13	1.00 ± 0.13	0.92 ± 0.12	1.05 ± 0.14
eRFG ⁸ (>90 mL/min)	61.07 ± 18.20	59.32 ± 19.50	63.93 ± 19.20	55.41 ± 15.30
Glicose ⁹ (70-99 mg/dL)	89.13±9.58	93.53±15.93	90.03±10.27	91.63±12.52
Alanina aminotransferase ¹⁰ (11.0-39.0 u/L)	22.90 ± 7.85	23.43 ± 10.27	23.97 ± 7.57	22.93 ± 9.27
Aspartato aminotransferase ¹¹ (11.00-39.0 U/L)	26.93 ± 15.50	25.93 ± 13.39	24.97 ± 8.68	23.23 ± 7.44
Fosfatase alcalina ^{12*} (27-100 UI/L)	85.50 (68.00 a 105.75)	90.50 (73.50 a 117.00)	90.00 (73.00 a 107.25)	90.00 (78.75 a 109.75)
LDH ¹³ (200-480 U/L)	365.30 ± 50.42	368.03 ± 66.70	395.20 ± 98.07	374.43 ± 75.88
Lactato ¹⁴ (0.5-2.22 mmol/L)	1.67 ± 0.41	1.71 ± 0.36	1.64 ± 0.46	1.65 ± 0.35
Amônia ¹⁵ (11,0-35,0 umol/L)		86.04 ± 31,03		86.74 ± 48,99

¹p = 0.04 (intragrupo CAS);

p = 0,0007 (intragrupo L-Gln);

p = ns (intergrupo CAS x L-Gln)

²p = 0,0003 (intragrupo CAS);

p = 0,0006 (intragrupo L-Gln);

p = ns (intergrupo CAS x L-Gln)

³p = 0,0327 (intragrupo CAS);

p = ns (intragrupo L-Gln);

p = ns (intergrupo CAS x L-Gln)

⁴p = 0.0013 (intragrupo CAS);

p = 0.0041 (intragrupo L-Gln)

p = ns (intergrupo CAS x L-Gln)

⁵p = ns (intragrupo CAS);

p = 0.0241 (intragrupo L-Gln);

p = ns (intergrupo CAS x L-Gln)

⁶p < 0,0001 (intragrupo CAS);

p < 0.0001 (intragrupo L-Gln);

p = ns (intergrupo CAS x L-Gln)

⁷p = ns (intragrupo CAS);

p < 0.0001 (intragrupo L-Gln);

p = ns (intergrupo CAS x L-Gln)

⁸p = ns (intragrupo CAS);

p < 0.0001 (intragrupo L-Gln);

p = ns (intergrupo CAS x L-Gln)

^{9,10,11,12,13,14,15}p = ns

A diminuição estatisticamente significativa do hematócrito e hemoglobina entre T0 e T1 tanto no grupo caseinato de cálcio (CAS) quanto no grupo glutamina (GLU) não tem significado clínico, pois apesar da variação os níveis se mantêm dentro da faixa de normalidade do método (Tabelas 3 e 4; Figuras 4 e 5).

TABELA 3 – Valores da média e desvio padrão do hematócrito (%) mensurado nos tempos T0 e T1 em 30 indivíduos dos grupos caseinato e glutamina.

<i>Tempo</i>	<i>Caseinato</i>		<i>Glutamina</i>		<i>Significância (intergrupos)</i>
	Média	Desvio padrão	Média	Desvio padrão	
T0	39,810	5,241	39,807	4,411	p = 0,9949
T1	38,640	3,955	38,760	3,985	p = 0,6750
Significância (intragrupo)	p = 0,0400		p = 0,0007		

Nota: Dados analisados pelo teste *t* para variáveis emparelhadas.

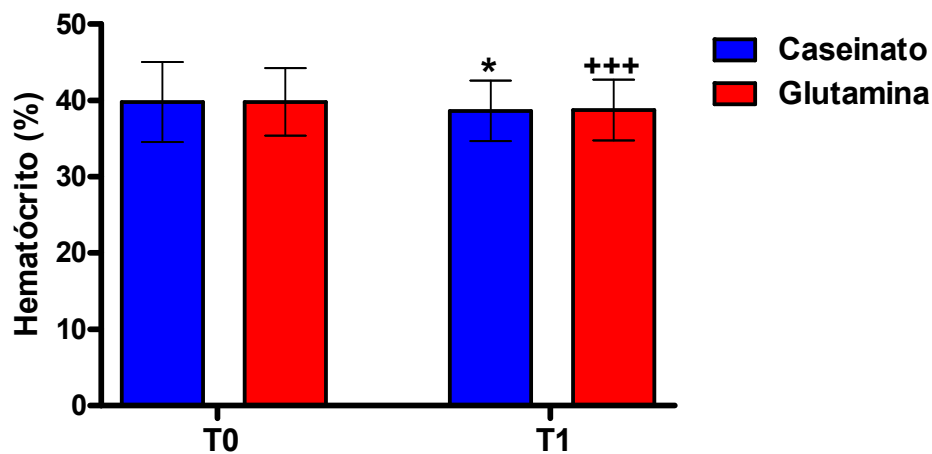


FIGURA 4 – Valores do hematócrito obtidos antes (T0) e após (T1) o tratamento nos sujeitos dos grupos caseinato e glutamina. Dados expressos como média e desvio padrão, análise dos dados pelo teste *t* para variáveis emparelhadas: * p = 0,0400: T1 < T0 no grupo caseinato; +++ p = 0,0007: T1 < T0 no grupo glutamina.

TABELA 4 – Valores da média e desvio padrão da hemoglobina (g/dl) mensurada nos tempos T0 e T1 em 30 indivíduos dos grupos caseinato e glutamina.

Tempo	Caseinato		Glutamina		Significância (intergrupos)
	Média	Desvio padrão	Média	Desvio padrão	
T0	13,458	1,420	13,410	1,461	p = 0,6803
T1	13,020	1,427	13,093	1,405	p = 0,4968
Significância (intragrupo)	p = 0,0003		p = 0,0006		

Nota: Dados analisados pelo teste *t* para variáveis emparelhadas.

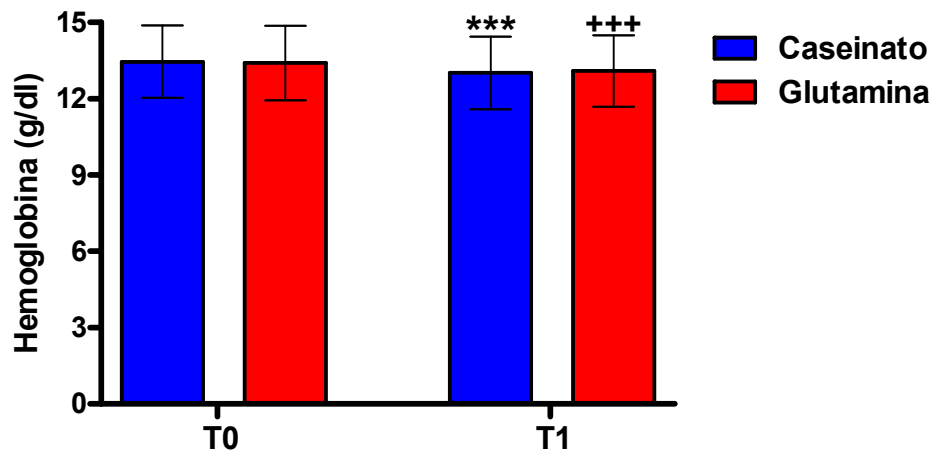


FIGURA 5 – Valores da hemoglobina obtidos antes (T0) e após (T1) o tratamento nos indivíduos dos grupos caseinato e glutamina. Dados expressos como média e desvio padrão, análise dos dados pelo teste *t* para variáveis emparelhadas: *** p = 0,0003: T1 < T0 no grupo caseinato; +++ p = 0,0006: T1 < T0 no grupo glutamina.

Constatou-se aumento estatisticamente significativo do número de leucócitos no grupo caseinato (Tabela 5 e Figura 6). Em número absoluto de linfócitos observou-se aumento significativo nos dois grupos (Tabela 6 e Figura 7). A porcentagem de linfócitos aumentou significativamente no grupo glutamina (Tabela 7 e Figura 8). Apesar das alterações observadas nestes parâmetros todos permaneceram dentro da faixa de normalidade.

Observou-se aumento estatisticamente significativo dos níveis de uréia no período de suplementação com caseinato de cálcio (p < 0,0001) e com L-glutamina (p < 0,0001). Contudo, quando se compararam os grupos seja em T0 (p = 0,6085), seja em T1 (p = 0,5997) diferenças estatisticamente significantes não foram constatadas (Tabela 8 e Figura 9).

TABELA 5 – Valores da média e desvio padrão do número de leucócitos ($1/\text{mm}^3$) obtido nos tempos T0 e T1 em 30 indivíduos dos grupos caseinato e glutamina.

Tempo	Caseinato		Glutamina		Significância (intergrupos)
	Média	Desvio padrão	Média	Desvio padrão	
T0	7163,333	2622,119	6953,333	2028,543	p = 0,4894
T1	7660,000	2450,841	7310,000	2318,048	p = 0,0856
Significância (intragrupo)	p = 0,0327		p = 0,1031		

Nota: Dados analisados pelo teste *t* para variáveis emparelhadas.

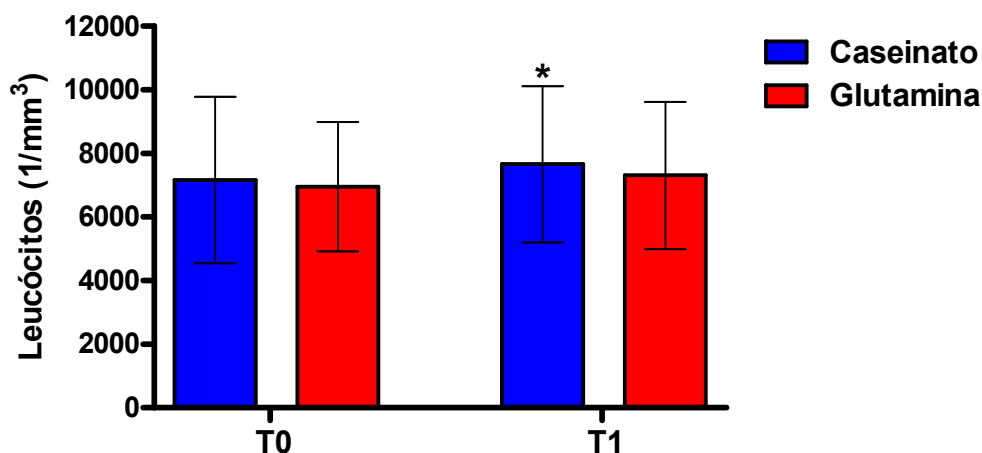


FIGURA 6 – Contagem de leucócitos realizada antes (T0) e após (T1) o tratamento nos indivíduos dos grupos caseinato e glutamina. Dados expressos como média e desvio padrão, análise dos dados pelo teste *t* para variáveis emparelhadas: * p = 0,0327: T1 > T0 no grupo caseinato.

Na avaliação da creatinina houve diferença significativa no período de suplementação de L-glutamina sendo $p < 0,0001$, porém, sem relevância clínica, já que os valores médios estiveram dentro da faixa de normalidade. Além disso, não foram constatadas diferenças significativas na comparação entre os dois grupos, tanto em T0 ($p = 0,1547$) quanto em T1 ($p = 0,1608$) (Tabela 9 e Figura 10).

TABELA 6 – Valores da média e desvio padrão do número de linfócitos ($1/\text{mm}^3$), em valores absolutos, obtidos nos tempos T0 e T1 em 30 indivíduos dos grupos caseinato e glutamina.

Tempo	Caseinato		Glutamina		Significância (intergrupos)
	Média	Desvio padrão	Média	Desvio padrão	
T0	1938,533	678,537	2025,667	728,616	p = 0,4364
T1	2376,300	796,637	2439,033	845,470	p = 0,6407
Significância (intragrupo)	p = 0,0013		p = 0,0041		

Nota: Dados analisados pelo teste *t* para variáveis emparelhadas.

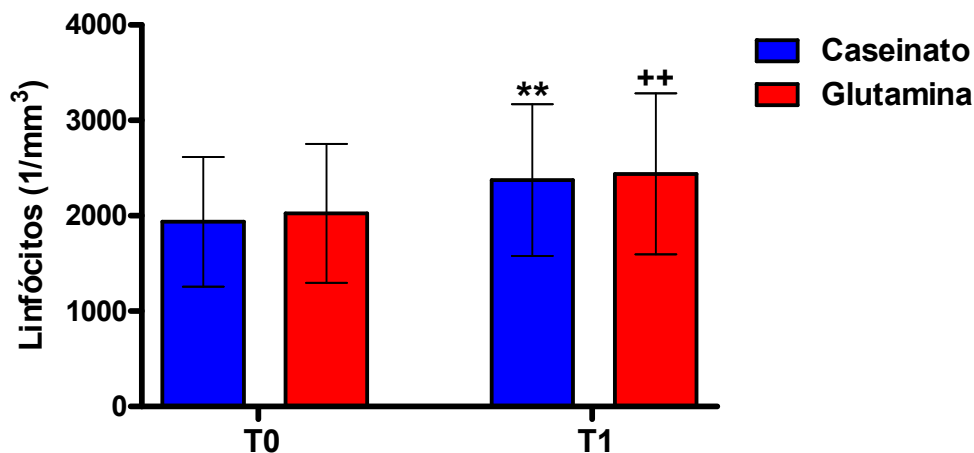


FIGURA 7 – Contagem de linfócitos, em valores absolutos, realizada antes (T0) e após (T1) o tratamento nos indivíduos dos grupos caseinato e glutamina. Dados expressos como média e desvio padrão, análise dos dados pelo teste *t* para variáveis emparelhadas: ** p = 0,0013: T1 > T0 no grupo caseinato; ++ p = 0,0041: T1 > T0 no grupo glutamina.

Quando foi aplicada a fórmula de Cockcroft-Gault (COCKCROFT; GAULT, 1976) para estimativa do Ritmo de Filtração Glomerular (eRFG) a alteração persistiu e observou-se diferença estatisticamente significativa no período de suplementação de L-glutamina (p = 0,0001) fato que não se repetiu no período de suplementação com caseinato de cálcio (p = 0,346) (Tabela 10 e Figura 11).

TABELA 7 – Valores da média e desvio padrão do percentual de linfócitos (%) obtidos nos tempos T0 e T1 em 30 indivíduos dos grupos caseinato e glutamina.

<i>Tempo</i>	<i>Caseinato</i>		<i>Glutamina</i>		<i>Significância (intergrupos)</i>
	Média	Desvio padrão	Média	Desvio padrão	
T0	28,567	9,666	29,833	9,097	p = 0,5212
T1	31,300	9,348	33,267	10,027	p = 0,1965
Significância (intragrupo)	p = 0,1814		p = 0,0241		

Nota: Dados analisados pelo teste *t* para variáveis emparelhadas.

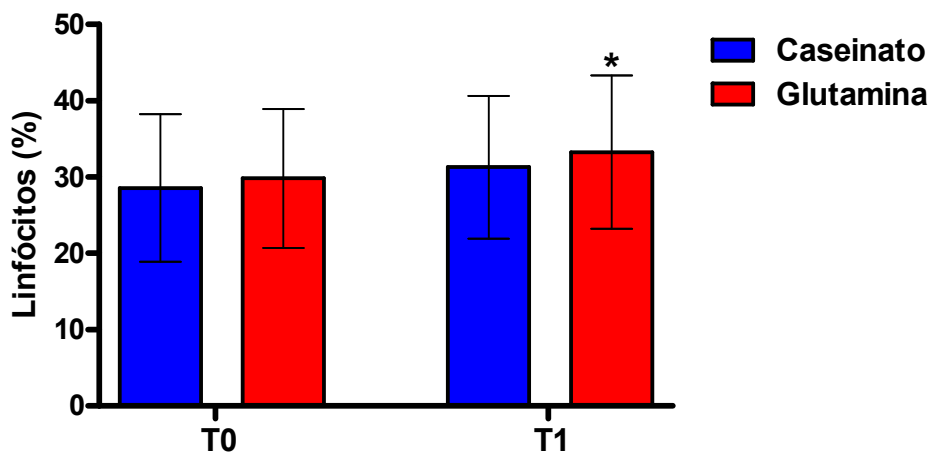


FIGURA 8 – Contagem de linfócitos, em termos relativos (percentuais), realizada antes (T0) e após (T1) o tratamento nos indivíduos dos grupos caseinato e glutamina. Dados expressos como média e desvio padrão, análise dos dados pelo teste *t* para variáveis emparelhadas: * p = 0,0241: T1 > T0 no grupo glutamina.

Quando foi analisada a diferença da eRFG entre os grupos nos períodos pré e pós-suplementação, observou-se significância entre T1 menos T0 no grupo glutamina = - 8,52mL/min e T1 menos T0 no grupo caseinato de cálcio = -1,75mL/min (p = 0,029), sendo a redução média de 13,3% no grupo glutamina, e de 2,9% no grupo caseinato de cálcio.

TABELA 8 – Valores da média e desvio padrão da concentração sanguínea de uréia (mg/dl) mensurada nos tempos T0 e T1 em 30 indivíduos dos grupos caseinato e glutamina.

Tempo	Caseinato		Glutamina		Significância (intergrupos)
	Média	Desvio padrão	Média	Desvio padrão	
T0	33,033	8,688	34,100	9,117	p = 0,608
T1	43,066	11,732	44,200	8,833	p = 0,599
Significância (intragrupo)	p < 0,0001		p < 0,0001		

Nota: Dados analisados pelo teste *t* para variáveis emparelhadas.

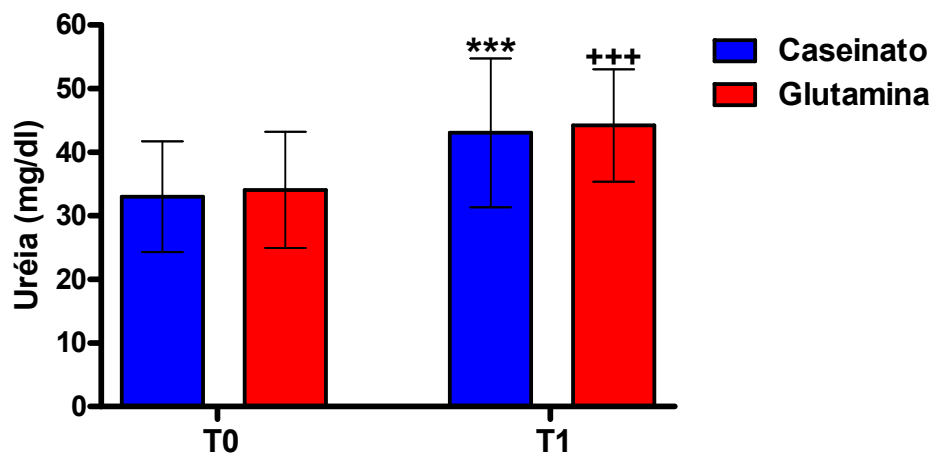


FIGURA 9 – Concentração sanguínea de uréia mensurada antes (T0) e após (T1) o tratamento nos indivíduos dos grupos caseinato e glutamina. Dados expressos como média e desvio padrão, análise dos dados pelo teste *t* para variáveis emparelhadas: *** p < 0,0001: T1 > T0 no grupo caseinato; +++ p < 0,0001: T1 > T0 no grupo glutamina.

Não houve nenhuma alteração estatisticamente significativa nos parâmetros utilizados para avaliação da integridade e função hepática: Aspartato-transaminase (AST) (Tabela 11 e Figura 12), Alanina-transaminase (ALT) (Tabela 12 e Figura 13), Fosfatase Alcalina (FA) (Tabela 13 e Figura 14), Lactato (Tabela 14 e Figura 15), Lactato desidrogenase (LDH) (Tabela 15 e Figura 16), Albumina (Tabela 16 e Figura 17).

Os níveis de pré-albumina apresentaram aumento estatístico significativo no grupo caseinato após suplementação (Tabela 17, Figura 18).

TABELA 9 – Valores da média e desvio padrão da concentração sanguínea de creatinina (mg/dl) mensurada nos tempos T0 e T1 em 30 indivíduos dos grupos caseinato e glutamina.

Tempo	Caseinato		Glutamina		Significância (intergrupos)
	Média	Desvio padrão	Média	Desvio padrão	
T0	0,957	0,125	0,917	0,123	p = 0,1547
T1	1,003	0,133	1,050	0,138	p = 0,1608
Significância (intragrupo)	p = 0,1239		p < 0,0001		

Nota: Dados analisados pelo teste *t* para variáveis emparelhadas.

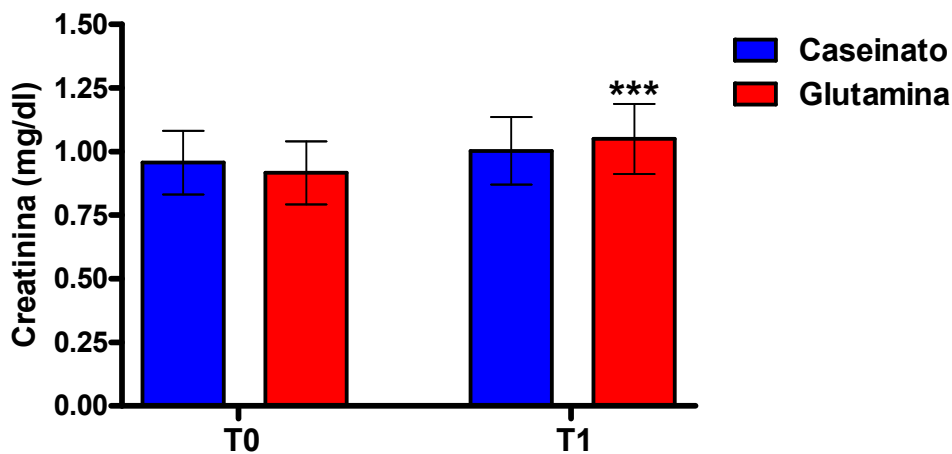


FIGURA 10 – Concentração sanguínea de creatinina mensurada antes (T0) e após (T1) o tratamento nos sujeitos dos grupos caseinato e glutamina. Dados expressos como média e desvio padrão, análise dos dados pelo teste *t*: para variáveis emparelhadas: *** p < 0,0001: T1 > T0 no grupo glutamina.

Na avaliação dos níveis de amônia sérica, cuja dosagem foi realizada apenas na última coleta, estes se mostraram alterados: tanto nos 14 indivíduos do grupo caseinato ($86,038 \pm 31,030$) quanto nos 16 indivíduos do grupo glutamina ($86,744 \pm 48,993$), porém ao compararmos os dois grupos pelo teste *t*, não houve diferença estatisticamente significativa (p = 0,9634) (Figura 19).

TABELA 10 – Valores da média e desvio padrão da estimativa do Ritmo de Filtração Glomerular (mL/min) mensurada nos tempos T0 e T1 em 30 indivíduos dos grupos caseinato e glutamina.

<i>Tempo</i>	<i>Caseinato</i>		<i>Glutamina</i>		<i>Significância (intergrupos)</i>
	Média	Desvio padrão	Média	Desvio padrão	
T0	61,071	18,219	63,933	19,196	p = 0,1919
T1	59,321	19,492	55,412	15,280	p = 0,0666
Significância (intragrupo)	p = 0,3472		p = 0,0001		

Nota: Dados analisados pelo teste *t* para variáveis emparelhadas.

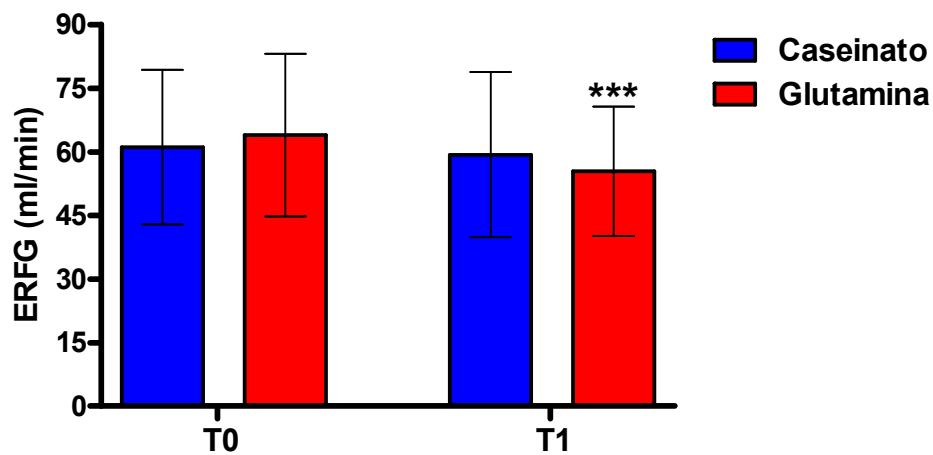


FIGURA 11 – Estimativa do Ritmo de Filtração Glomerular mensurada antes (T0) e após (T1) o tratamento nos indivíduos dos grupos caseinato e glutamina. Dados expressos como média e desvio padrão, análise dos dados pelo teste *t* para variáveis emparelhadas: *** p = 0,0001: T1 < T0 no grupo glutamina.

TABELA 11 – Valores da média e desvio padrão da concentração sanguínea de AST (U/L) mensurada nos tempos T0 e T1 em 30 indivíduos dos grupos caseinato e glutamina.

<i>Tempo</i>	<i>Caseinato</i>		<i>Glutamina</i>		<i>Significância (intergrupos)</i>
	Média	Desvio padrão	Média	Desvio padrão	
T0	26,933	14,501	24,967	8,676	p = 0,5296
T1	25,933	13,388	23,233	7,436	p = 0,3529
Significância (intragrupo)	p = 0,7976		p = 0,2632		

Nota: Dados analisados pelo teste *t* para variáveis emparelhadas.

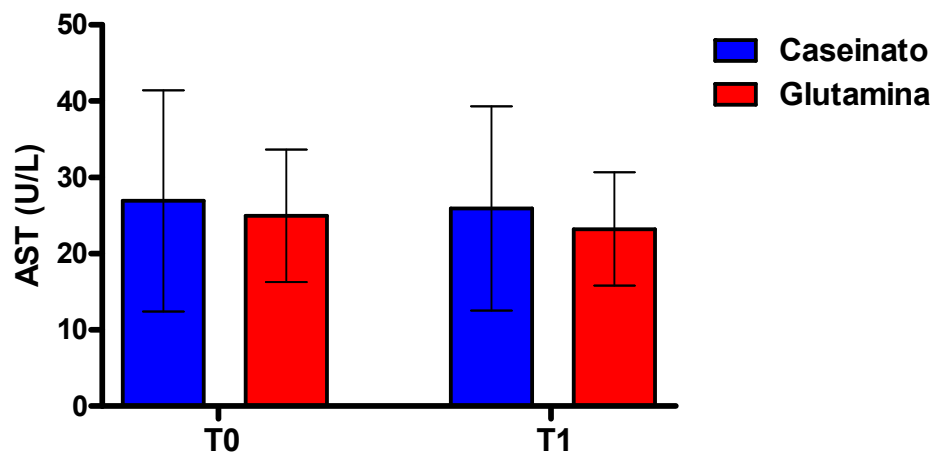


FIGURA 12 – Concentração sanguínea de AST mensurada antes (T0) e após (T1) o tratamento nos indivíduos dos grupos caseinato e glutamina. Dados expressos como média e desvio padrão, análise dos dados pelo teste *t* para variáveis emparelhadas: não foram constatadas diferenças estatisticamente significantes.

TABELA 12 – Valores da média e desvio padrão da concentração sanguínea de ALT (U/L) mensurada nos tempos T0 e T1 em 30 indivíduos dos grupos caseinato e glutamina.

<i>Tempo</i>	<i>Caseinato</i>		<i>Glutamina</i>		<i>Significância (intergrupos)</i>
	Média	Desvio padrão	Média	Desvio padrão	
T0	22,900	7,849	23,967	7,573	p = 0,5720
T1	23,433	10,274	22,933	9,266	p = 0,8273
Significância (intragrupo)	p = 0,8049		p = 0,5583		

Nota: Dados analisados pelo teste *t* para variáveis emparelhadas.

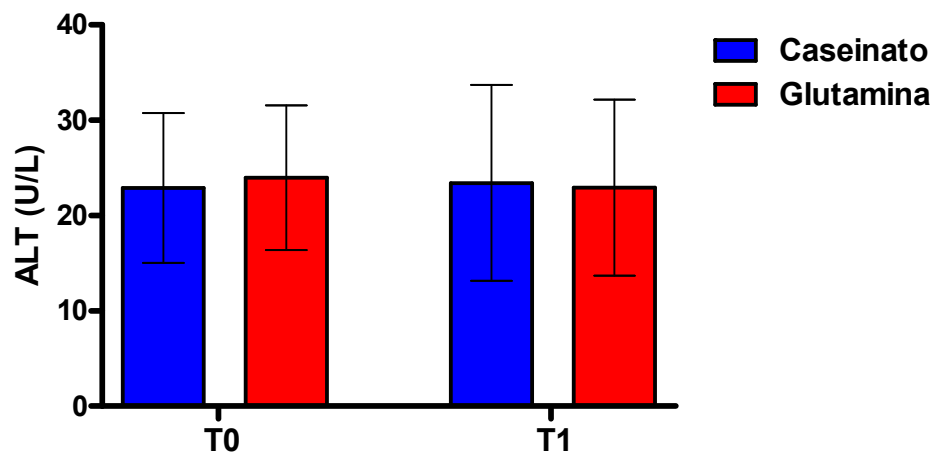


FIGURA 13 – Concentração sanguínea de ALT mensurada antes (T0) e após (T1) o tratamento nos indivíduos dos grupos caseinato e glutamina. Dados expressos como média e desvio padrão, análise dos dados pelo teste *t* para variáveis emparelhadas: não foram constatadas diferenças estatisticamente significantes.

TABELA 13 – Valores da mediana e intervalo interquartil (percentil 25 – percentil 75) da concentração sanguínea de fosfatase alcalina mensurada nos tempos T0 e T1 em 30 indivíduos dos grupos caseinato e glutamina.

<i>Tempo</i>	<i>Caseinato</i>		<i>Glutamina</i>		<i>Significância (intergrupos)</i>
	Mediana	Intervalo interquartil	Mediana	Intervalo interquartil	
T0	85,500	68,000 – 105,750	90,000	73,000 – 107,250	p = 0,9741
T1	90,500	73,500 – 117,000	90,000	78,750 – 109,750	p = 0,6037
Significância (intragrupo)	p = 0,0742		p = 0,3327		

Nota: Análise dos dados pelo teste de Wilcoxon.

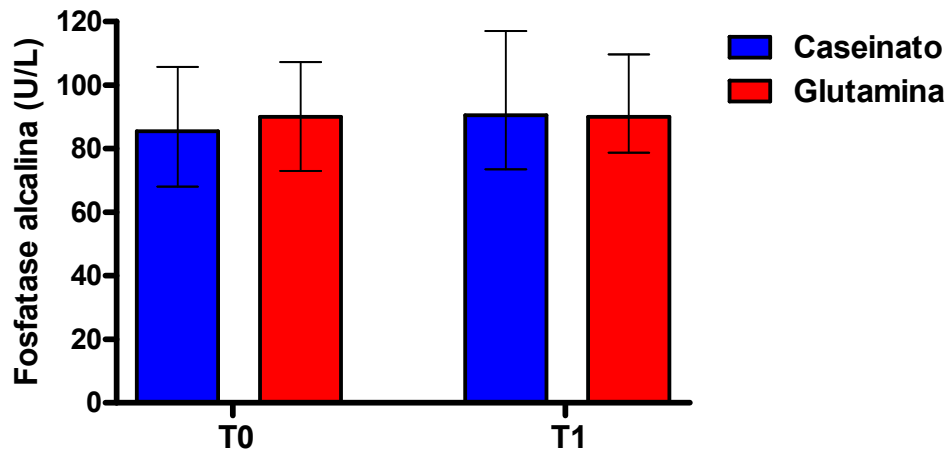


FIGURA 14 – Concentração sanguínea de fosfatase alcalina mensurada antes (T0) e após (T1) o tratamento nos indivíduos dos grupos caseinato e glutamina. Dados expressos como mediana e intervalo interquartil (percentil 25 – percentil 75), análise dos dados pelo teste de Wilcoxon: não foram constatadas diferenças estatisticamente significantes.

TABELA 14 – Valores da média e desvio padrão da concentração sanguínea de Lactato (mmol/l) mensurada nos tempos T0 e T1 em 30 indivíduos dos grupos caseinato e glutamina.

<i>Tempo</i>	<i>Caseinato</i>		<i>Glutamina</i>		<i>Significância (intergrupos)</i>
	Média	Desvio padrão	Média	Desvio padrão	
T0	1,670	0,413	1,638	0,456	p = 0,7812
T1	1,708	0,361	1,650	0,346	p = 0,5806
Significância (intragrupo)	p = 0,6994		p = 0,8913		

Nota: Dados analisados pelo teste *t* para variáveis emparelhadas.

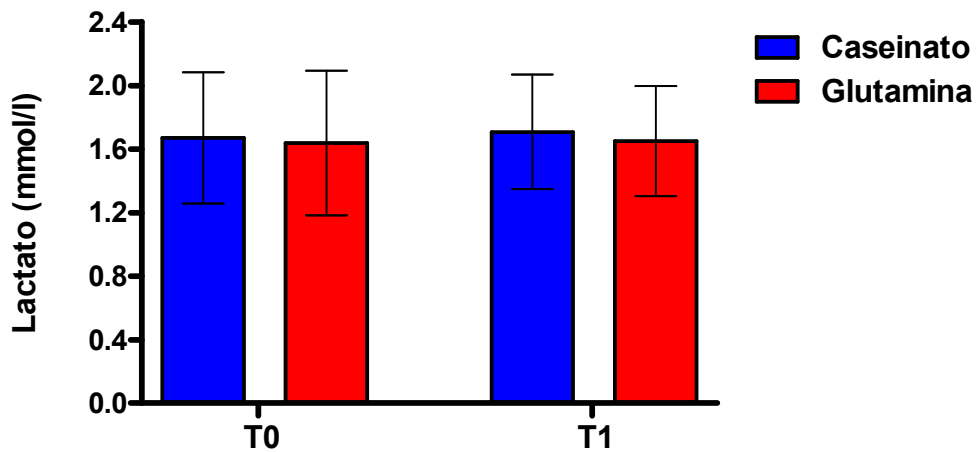


FIGURA 15 – Concentração sanguínea de lactato mensurada antes (T0) e após (T1) o tratamento nos sujeitos dos grupos caseinato e glutamina. Dados expressos como média e desvio padrão, análise dos dados pelo teste *t* para variáveis emparelhadas: não foram constatadas diferenças estatisticamente significantes.

TABELA 15 – Valores da média e desvio padrão da concentração sanguínea de LDH (U/L) mensurada nos tempos T0 e T1 em 30 indivíduos dos grupos caseinato e glutamina.

<i>Tempo</i>	<i>Caseinato</i>		<i>Glutamina</i>		<i>Significância (intergrupos)</i>
	Média	Desvio padrão	Média	Desvio padrão	
T0	365,300	50,421	395,200	98,069	p = 0,1026
T1	368,033	66,704	374,433	75,879	p = 0,5954
Significância (intragrupo)	p = 0,7901		p = 0,2712		

Nota: Dados analisados pelo teste *t* para variáveis emparelhadas.

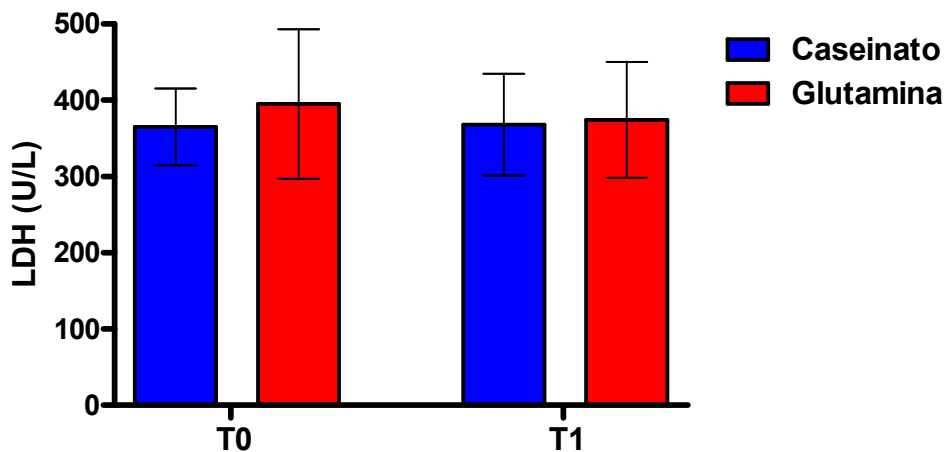


FIGURA 16 – Concentração sanguínea de LDH mensurada antes (T0) e após (T1) o tratamento nos indivíduos dos grupos caseinato e glutamina. Dados expressos como média e desvio padrão, análise dos dados pelo teste *t* para variáveis emparelhadas: não foram constatadas diferenças estatisticamente significantes.

TABELA 16 – Valores da média e desvio padrão da concentração sanguínea de albumina (g/dl) mensurada nos tempos T0 e T1 em 30 indivíduos dos grupos caseinato e glutamina.

<i>Tempo</i>	<i>Caseinato</i>		<i>Glutamina</i>		<i>Significância (intergrupos)</i>
	Média	Desvio padrão	Média	Desvio padrão	
T0	3,983	0,251	4,317	1,499	p = 0,2445
T1	3,977	0,349	3,947	0,247	p = 0,7041
Significância (intragrupo)	p = 0,9253		p = 0,1799		

Nota: Dados analisados pelo teste *t* para variáveis emparelhadas.

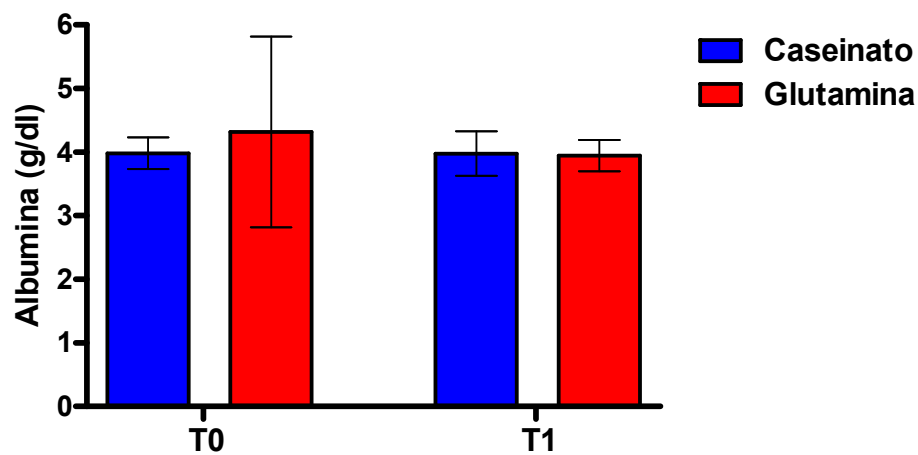


FIGURA 17 – Concentração sanguínea de albumina mensurada antes (T0) e após (T1) o tratamento nos indivíduos dos grupos caseinato e glutamina. Dados expressos como média e desvio padrão, análise dos dados pelo teste *t* para variáveis emparelhadas: não foram constatadas diferenças estatisticamente significantes.

TABELA 17 – Valores da média e desvio padrão da concentração sanguínea de pré-albumina (g/dl) mensurada nos tempos T0 e T1 em 30 indivíduos dos grupos caseinato e glutamina.

<i>Tempo</i>	<i>Caseinato</i>		<i>Glutamina</i>		<i>Significância (intergrupos)</i>
	Média	Desvio padrão	Média	Desvio padrão	
T0	0,247	0,060	0,259	0,056	p = 0,2784
T1	0,270	0,057	0,246	0,060	p = 0,0149
Significância (intragrupo)	p = 0,0084		p = 0,1667		

Nota: Dados analisados pelo teste *t* para variáveis emparelhadas.

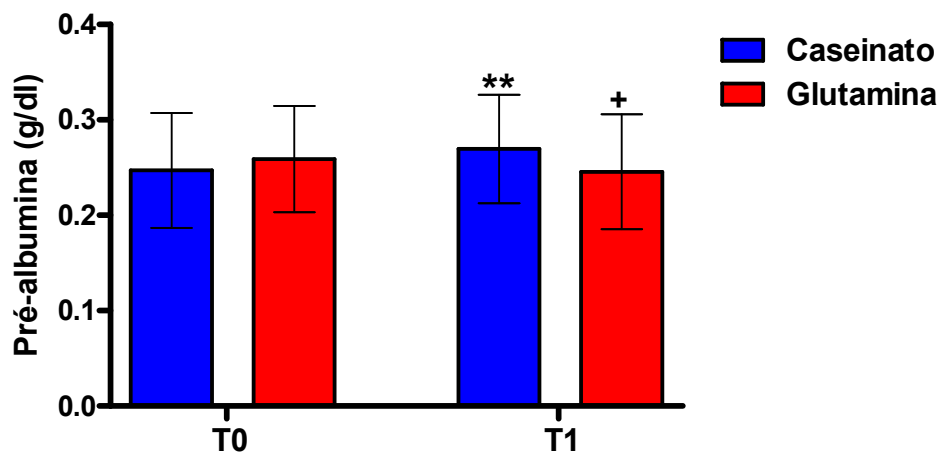


FIGURA 18 – Concentração sanguínea de pré-albumina mensurada antes (T0) e após (T1) o tratamento nos sujeitos dos grupos caseinato e glutamina. Dados expressos como média e desvio padrão, análise dos dados pelo teste *t* para variáveis emparelhadas: ** p = 0,0084: T1 > T0 no grupo caseinato; + p = 0,0149: glutamina < caseinato no tempo T1.

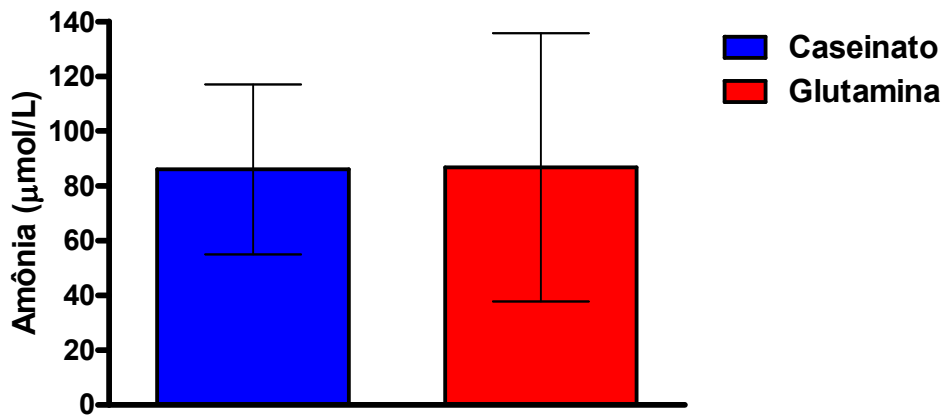


FIGURA 19 – Concentração sanguínea de amônia mensurada após o tratamento (T1) nos sujeitos dos grupos caseinato e glutamina. Dados expressos como média e desvio padrão das medições efetuadas em 14 indivíduos do grupo caseinato e 16 indivíduos do grupo glutamina. O teste *t* para variáveis não emparelhadas foi usado para comparar os grupos caseinato ($86,038 \pm 31,030$) e glutamina ($86,744 \pm 48,993$), não sendo evidenciada diferença estatisticamente significativa ($p = 0,9634$).

4.3 Avaliação da capacidade antioxidante

A concentração sanguínea de Glutathione Total avaliada nos diversos períodos da suplementação mostrou uma redução estatisticamente significativa no grupo caseinato em T1 ($p = 0,0031$) e um aumento não significativo em T1 no grupo glutamina, porém quando se compararam as medidas em T1 nos dois grupos houve uma diferença significativa sendo os níveis maiores no grupo glutamina ($p = 0,0076$) (Tabela 18 e Figura 20).

Os níveis de “glutathione total” (GSHt) mostraram aumentos significativos tanto no grupo glutamina ($p = 0,0022$) quanto no grupo caseinato ($p < 0,0001$) (Tabela 19 e Figura 21).

Aumento significativo foi constatado também em relação à glutathione oxidada (GSSG) no grupo glutamina ($p = 0,0003$) e no grupo caseinato ($p = 0,0179$) (Tabela 20 e Figura 22).

No cálculo da razão GSH/GSSG não houve diferença nos dois grupos de suplementação (Tabela 21 e Figura 23), sendo que aqui foi utilizado o teste de Wilcoxon para variáveis não paramétricas.

Na avaliação do potencial redox pela Equação de Nerst não houve diferença nos dois grupos (Tabela 22 e Figura 24).

Na avaliação da substância reativa ácido tiobarbitúrico (TBARS) houve redução significativa no grupo caseinato quando comparados os dois momentos T0 e T1 ($p = 0,0071$), porém quando se comparam T1 de caseinato com o T1 de glutamina, há diferença significativa a favor da glutamina (Tabela 23 e Figura 25).

TABELA 18 – Valores da média e desvio padrão da concentração sanguínea de Glutathione Total ($\mu\text{mol/mL}$) mensurada nos tempos T0 e T1 em 30 indivíduos dos grupos caseinato e glutamina.

Tempo	Caseinato		Glutamina		Significância (intergrupos)
	Média	Desvio padrão	Média	Desvio padrão	
T0	1020,104	167,846	1050,613	225,767	$p = 0,5513$
T1	902,730	191,410	1071,990	276,619	$p = 0,0076$
Significância (intragrupo)	$p = 0,0031$		$p = 0,7002$		

Nota: Dados analisados pelo teste t para variáveis emparelhadas.

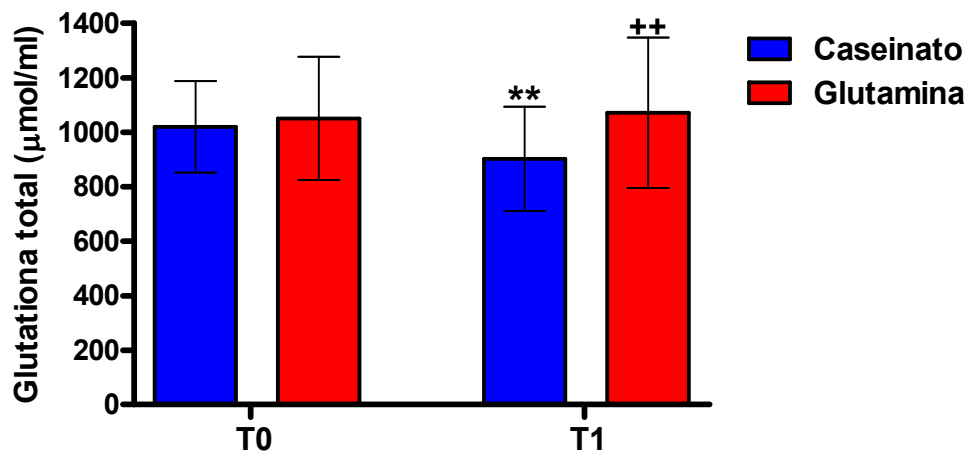


FIGURA 20 – Concentração sanguínea de Glutathione Total mensurada antes (T0) e após (T1) o tratamento nos indivíduos dos grupos caseinato e glutamina. Dados expressos como média e desvio padrão, análise dos dados pelo teste t para variáveis emparelhadas: ** $p = 0,0031$: T1 < T0 no grupo caseinato; ++ $p = 0,0076$: glutamina > caseinato no tempo T1.

TABELA 19 – Valores da média e desvio padrão da concentração sanguínea de GSht (μM) mensurada nos tempos T0 e T1 em 30 indivíduos dos grupos caseinato e glutamina.

<i>Tempo</i>	<i>Caseinato</i>		<i>Glutamina</i>		<i>Significância (intergrupos)</i>
	Média	Desvio padrão	Média	Desvio padrão	
T0	533,910	266,137	579,986	393,844	$p = 0,6627$
T1	804,342	230,257	820,380	135,931	$p = 0,7671$
Significância (intragrupo)	$p < 0,0001$		$p = 0,0022$		

Nota: Dados analisados pelo teste *t* para variáveis emparelhadas.

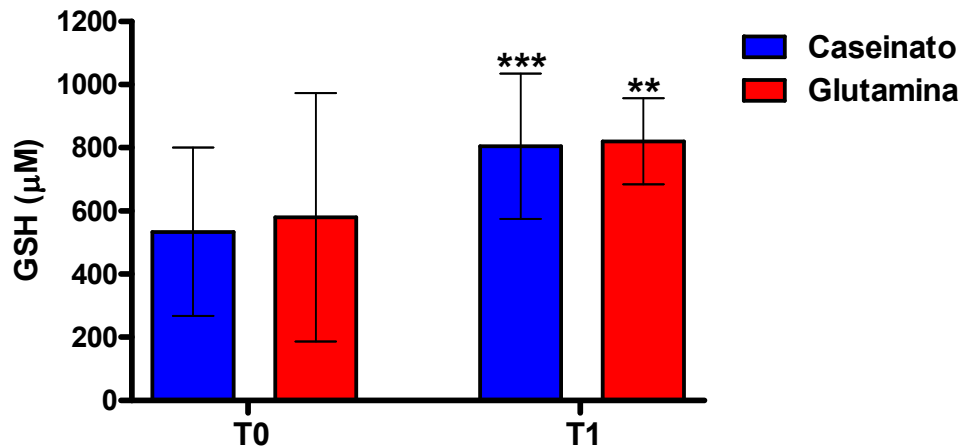


FIGURA 21 – Concentração sanguínea de “glutathiona total”(GSht) mensurada antes (T0) e após (T1) o tratamento nos indivíduos dos grupos caseinato e glutamina. Dados expressos como média e desvio padrão, análise dos dados pelo teste *t* para variáveis emparelhadas: *** $p < 0,0001$: T1 > T0 no grupo caseinato; ** $p = 0,0022$: T1 > T0 no grupo glutamina.

TABELA 20 – Valores da média e desvio padrão da concentração sanguínea de GSSG (μM) mensurada nos tempos T0 e T1 em 30 indivíduos dos grupos caseinato e glutamina.

<i>Tempo</i>	<i>Caseinato</i>		<i>Glutamina</i>		<i>Significância (intergrupos)</i>
	Média	Desvio padrão	Média	Desvio padrão	
T0	23,431	17,620	18,878	12,637	$p = 0,3434$
T1	45,402	35,819	46,167	28,104	$p = 0,9415$
Significância (intragrupo)	$p = 0,0179$		$p = 0,0003$		

Nota: Dados analisados pelo teste *t* para variáveis emparelhadas.

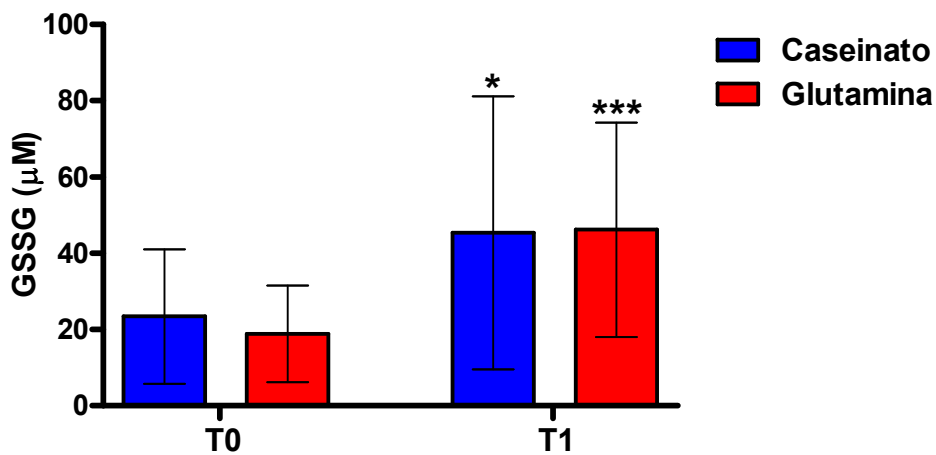


FIGURA 22 – Concentração sanguínea de GSSG mensurada antes (T0) e após (T1) o tratamento nos indivíduos dos grupos caseinato e glutamina. Dados expressos como média e desvio padrão, análise dos dados pelo teste *t* para variáveis emparelhadas: * $p = 0,0179$: T1 > T0 no grupo caseinato; *** $p = 0,0003$: T1 > T0 no grupo glutamina.

TABELA 21 – Valores da mediana e intervalo interquartil (percentil 25 – percentil 75) da razão GSH/GSSG mensurada nos tempos T0 e T1 em 30 indivíduos dos grupos caseinato e glutamina.

<i>Tempo</i>	<i>Caseinato</i>		<i>Glutamina</i>		<i>Significância (intergrupos)</i>
	Mediana	Intervalo interquartil	Mediana	Intervalo interquartil	
T0	20,780	9,205 – 76,065	39,275	8,225 – 82,658	p = 0,7892
T1	17,225	11,395 – 40,853	14,970	10,527 – 33,335	p = 0,8050
Significância (intragrupo)	p = 0,4225		p = 0,1229		

Nota: Análise dos dados pelo teste de Wilcoxon.

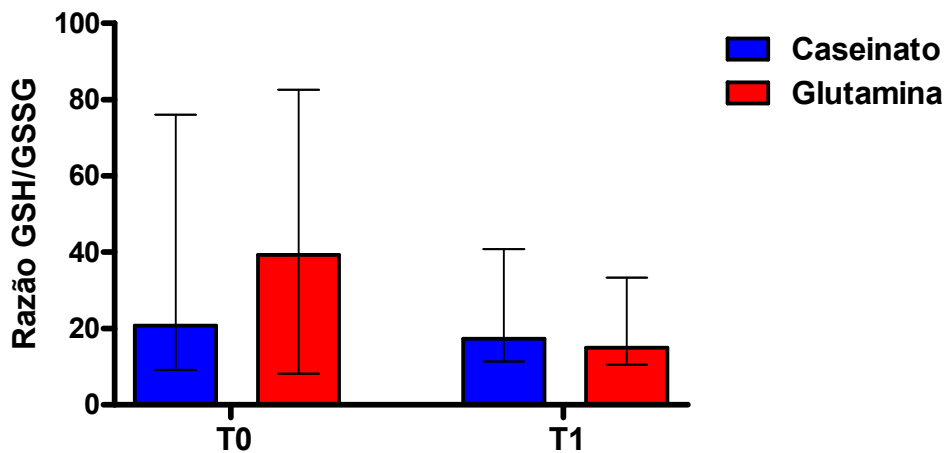


FIGURA 23 – Razão GSH/GSSG mensurada antes (T0) e após (T1) o tratamento nos indivíduos dos grupos caseinato e glutamina. Dados expressos como mediana e intervalo interquartil (percentil 25 – percentil 75), análise dos dados pelo teste de Wilcoxon: não foram encontradas diferenças estatisticamente significantes.

TABELA 22 – Valores da mediana e intervalo interquartil (percentil 25 – percentil 75) do potencial redox, de acordo com a equação de Nernst, relativos às medições realizadas em 30 indivíduos dos grupos caseinato e glutamina nos tempos T0 e T1.

<i>Tempo</i>	<i>Caseinato</i>		<i>Glutamina</i>		<i>Significância (intergrupos)</i>
	Mediana	Intervalo interquartil	Mediana	Intervalo interquartil	
T0	-0,116	-0,141 a -0,098	-0,129	-0,141 a -0,099	p = 0,7499
T1	-0,119	-0,132 a -0,117	-0,120	-0,130 a -0,114	p = 0,9672
Significância (intragrupo)	p = 0,3600		p = 0,6733		

Nota: Análise dos dados pelo teste de Wilcoxon.

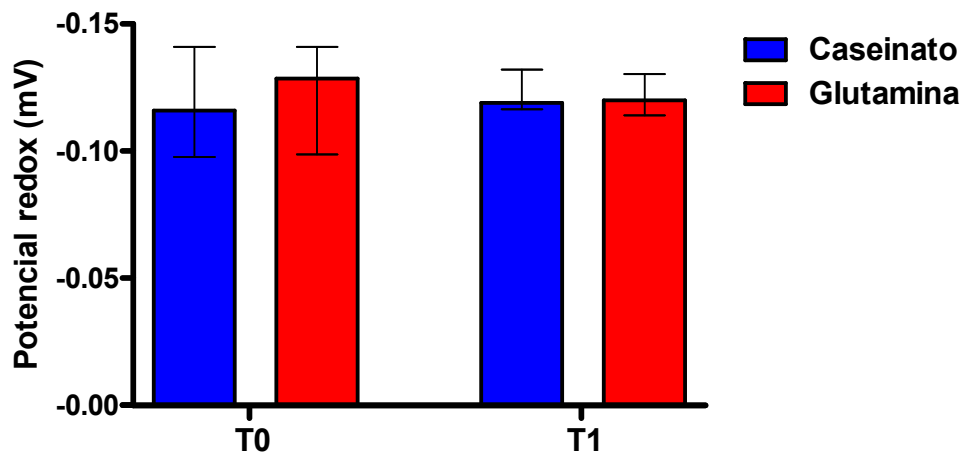


FIGURA 24 – Avaliação do potencial redox, de acordo com a equação de Nernst, realizada antes (T0) e após (T1) o tratamento nos sujeitos dos grupos Caseinato e Glutamina. Dados expressos como mediana e intervalo interquartil (percentil 25 – percentil 75), análise dos dados pelo teste de Wilcoxon: não foram encontradas diferenças estatisticamente significantes.

TABELA 23 – Valores da média e desvio padrão da concentração sanguínea de TBARS ($\mu\text{molMDA/mL}$) mensurada nos tempos T0 e T1 em 30 indivíduos dos grupos caseinato e glutamina.

Tempo	Caseinato		Glutamina		Significância (intergrupos)
	Média	Desvio padrão	Média	Desvio padrão	
T0	924,660	449,206	882,717	382,402	p = 0,7081
T1	696,578	247,715	818,983	320,502	p = 0,0487
Significância (intragrupo)	p = 0,0071		p = 0,2501		

Nota: Dados analisados pelo teste *t* para variáveis emparelhadas.

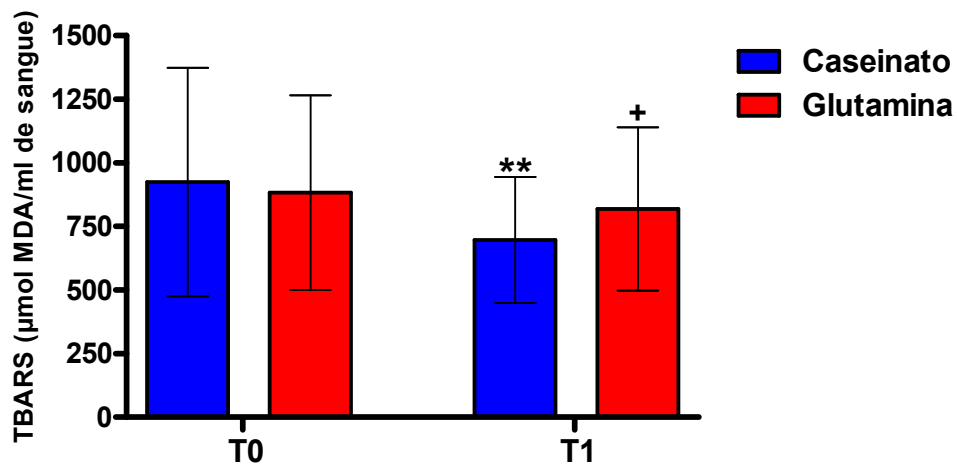


FIGURA 25 – Concentração sanguínea de TBARS mensurada antes (T0) e após (T1) o tratamento nos indivíduos dos grupos caseinato e glutamina. Dados expressos como média e desvio, análise dos dados pelo teste *t* para variáveis emparelhadas: ** p = 0,0071: T1 < T0 no grupo caseinato; + p = 0,0487: glutamina > caseinato no tempo T1.

4.4 Avaliação do impacto sobre via glicolítica e ação secretagoga de insulina

Não foram constatadas diferenças estaticamente significativas nos níveis de glicose (Tabela 24 e Figura 26), insulina (Tabela 25 e Figura 27) e peptídeo C (Tabela 26 e Figura 28) no grupo glutamina, tampouco no grupo caseinato nos diversos tempos avaliados.

TABELA 24 – Valores da média e desvio padrão da concentração sangüínea de glicose mensurada nos tempos T0 e T1 em 30 indivíduos dos grupos caseinato e glutamina.

<i>Tempo</i>	<i>Caseinato</i>		<i>Glutamina</i>		<i>Significância (intergrupos)</i>
	Média	Desvio padrão	Média	Desvio padrão	
T0	89,133	9,583	90,033	10,270	p = 0,6186
T1	93,533	15,930	91,633	12,522	p = 0,4822
Significância (intragrupo)	p = 0,0635		p = 0,4212		

Nota: Dados analisados pelo teste *t* para variáveis emparelhadas.

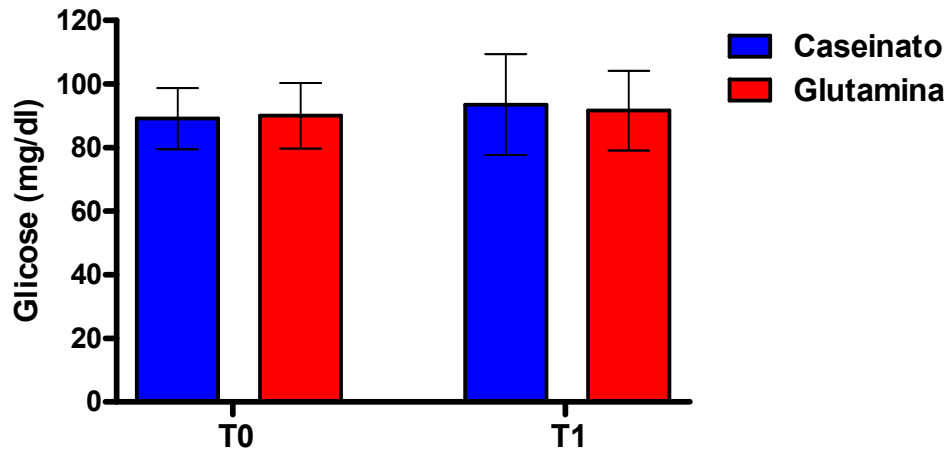


FIGURA 26 – Concentração sangüínea de glicose mensurada antes (T0) e após (T1) o tratamento nos indivíduos dos grupos caseinato e glutamina. Dados expressos como média e desvio padrão, análise dos dados pelo teste *t* para variáveis emparelhadas: não foram constatadas diferenças estatisticamente significantes.

TABELA 25 – Valores da mediana e intervalo interquartil (percentil 25 – percentil 75) da concentração sanguínea de insulina ($\mu\text{U}/\text{mL}$) mensurada nos tempos T0 e T1 em 30 indivíduos dos grupos caseinato e glutamina.

<i>Tempo</i>	<i>Caseinato</i>		<i>Glutamina</i>		<i>Significância (intergrupos)</i>
	Mediana	Intervalo interquartil	Mediana	Intervalo interquartil	
T0	5,405	3,013 – 8,170	5,665	3,138 – 10,068	$p = 0,2942$
T1	5,740	2,918 – 9,250	6,560	3,790 – 9,388	$p = 0,0769$
Significância (intragrupo)	$p = 0,4107$		$p = 0,1619$		

Nota: Análise dos dados pelo teste de Wilcoxon.

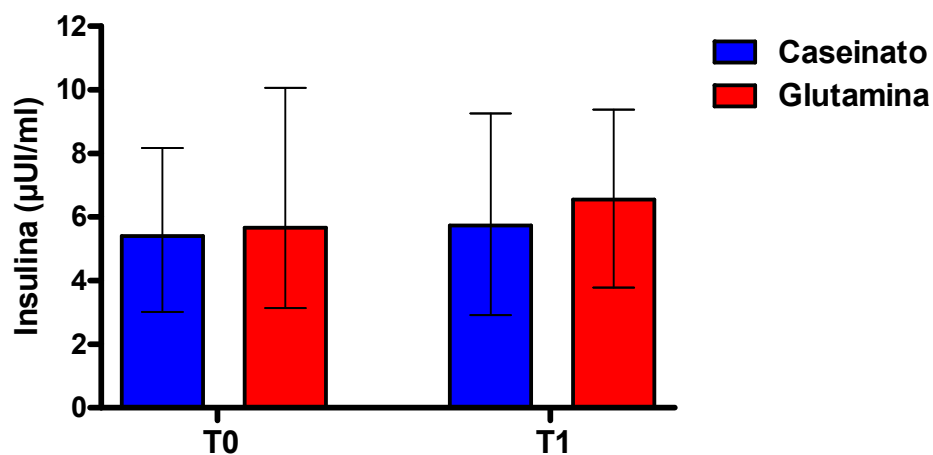


FIGURA 27 – Concentração sanguínea de insulina mensurada antes (T0) e após (T1) o tratamento nos indivíduos dos grupos caseinato e glutamina. Dados expressos como mediana e intervalo interquartil (percentil 25 – percentil 75), análise dos dados pelo teste de Wilcoxon: não foram constatadas diferenças estatisticamente significantes.

TABELA 26 – Valores da média e desvio padrão da concentração sanguínea de peptídeo C (ng/mL) mensurada nos tempos T0 e T1 em 30 indivíduos dos grupos caseinato e glutamina.

<i>Tempo</i>	<i>Caseinato</i>		<i>Glutamina</i>		<i>Significância (intergrupos)</i>
	Média	Desvio padrão	Média	Desvio padrão	
T0	1,981	1,628	2,162	1,736	p = 0,6777
T1	2,198	1,243	2,186	1,327	p = 0,9684
Significância (intragrupo)	p = 0,5468		p = 0,9508		

Nota: Dados analisados pelo teste *t* para variáveis emparelhadas.

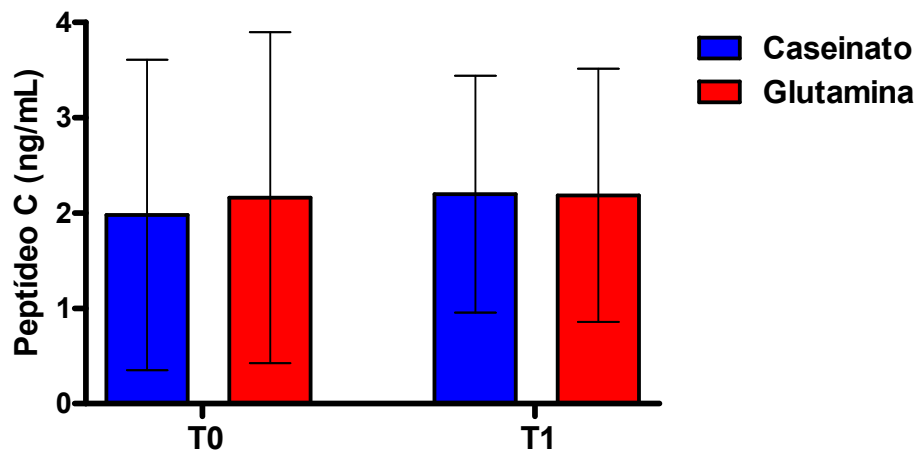


FIGURA 28 – Concentração sanguínea de peptídeo C mensurada antes (T0) e após (T1) o tratamento nos sujeitos dos grupos caseinato e glutamina. Dados expressos como média e desvio padrão, análise dos dados pelo teste *t* para variáveis emparelhadas: não foram constatadas diferenças estatisticamente significantes.

4.5 Avaliação da estimativa do Ritmo de Filtração Glomerular e idade

Foi realizada a correlação de Pearson entre a estimativa do Ritmo de Filtração Glomerular e a idade, que evidenciou uma associação negativa e estatisticamente significativa entre esses dois parâmetros tanto no grupo glutamina (T0: $r = -0,6489$, $p = 0,0001$; T1: $r = -0,6441$, $p = 0,0001$) quanto no grupo caseinato (T0: $r = -0,6704$, $p < 0,0001$; T1: $r = -0,6565$, $p < 0,0001$) (Figura 29).

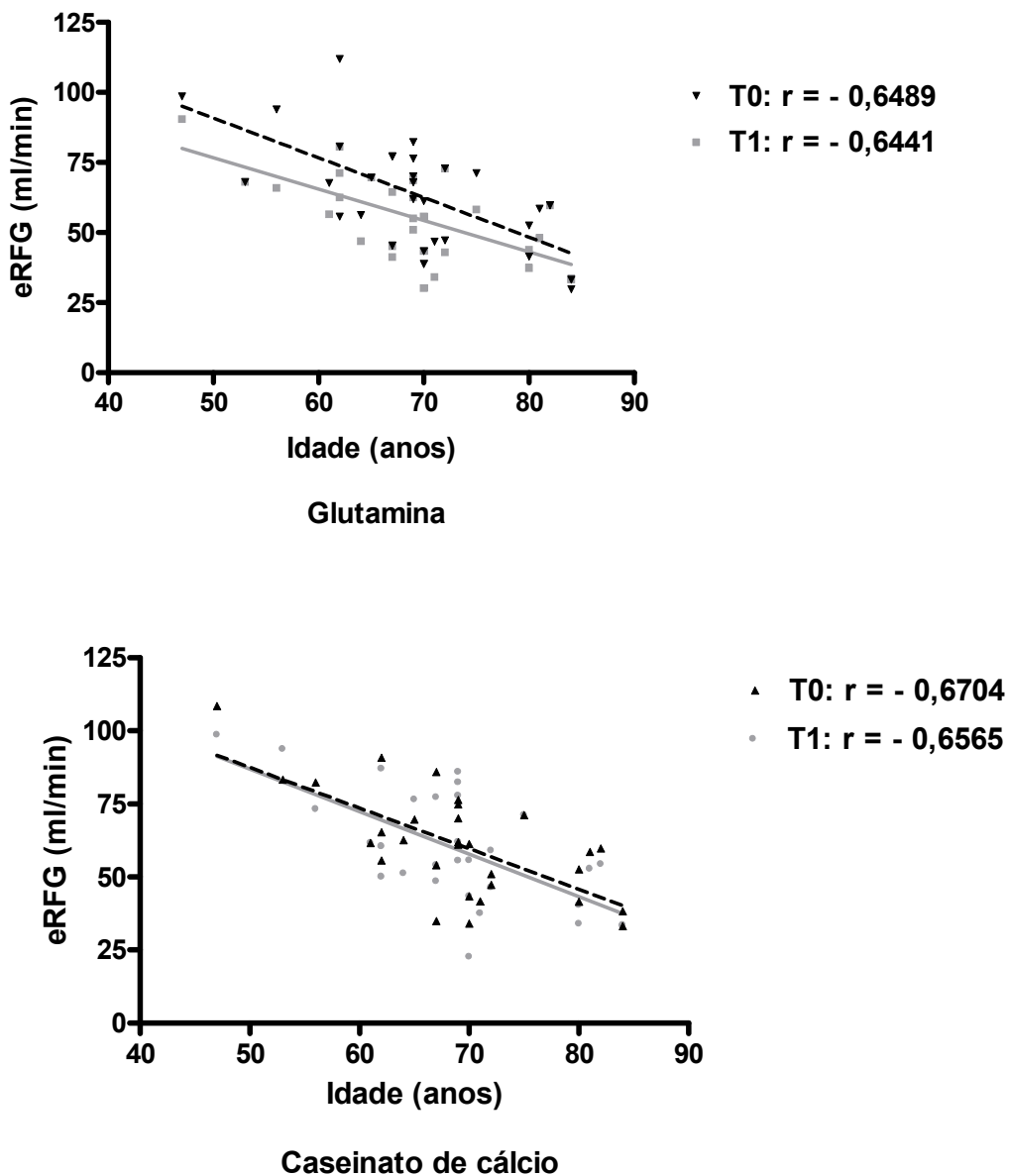


FIGURA 29 – Correlação eRFG e idade com suplementação de L-glutamina e caseinato de cálcio.

4.6 Avaliação da associação entre capacidade antioxidante e idade

A associação entre os valores da Glutathiona Total e a idade, em cada situação, foi avaliada pelo coeficiente de correlação linear de Pearson (r). Não se constatou correlação linear significativa entre a idade e T0-Caseinato ($r = 0,1315$; $p = 0,4884$), T0-Glutamina ($r = 0,0845$; $p = 0,6573$), T1-Caseinato ($r = 0,0175$; $p = 0,9268$) e T1-Glutamina ($r = 0,0471$; $p = 0,8049$) (Figura 30).

A associação entre os valores de GSht e a idade teve avaliação semelhante à glutathiona total. Não se constatou correlação linear significativa entre a idade e T0-Caseinato ($r = -0,0008$; $p = 0,9965$), T0-glutamina ($r = -0,0342$; $p = 0,8574$), T1-caseinato ($r = -0,0600$; $p = 0,7526$) e T1-glutamina ($r = 0,3224$; $p = 0,0823$) (Figura 31).

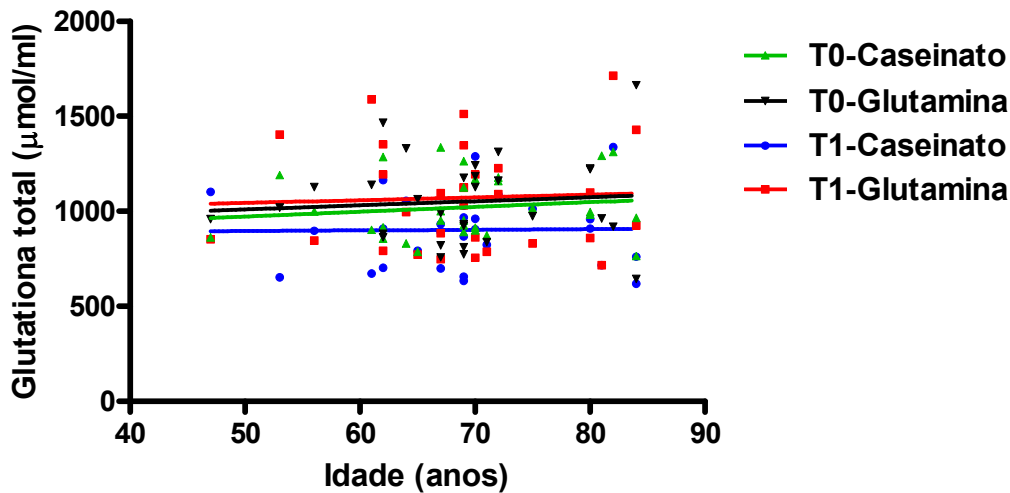


FIGURA 30 – Diagramas de dispersão da Glutathiona Total em função da idade relativos aos grupos caseinato e glutamina, considerando os tempos T0 (antes do tratamento) e T1 (após o tratamento).

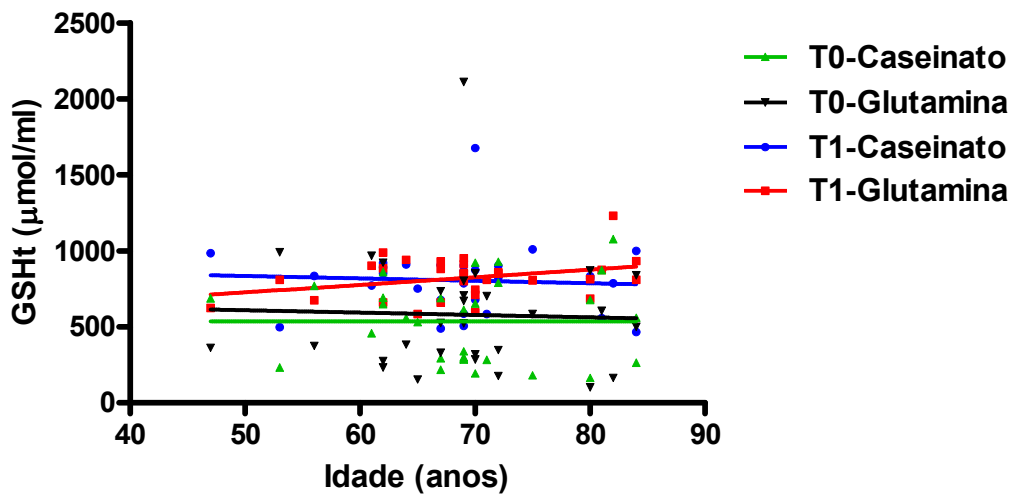


FIGURA 31 – Diagramas de dispersão de GSht em função da idade relativos aos grupos caseinato e glutamina, considerando os tempos T0 (antes do tratamento) e T1 (após o tratamento).

A análise da associação entre os valores da glutathiona oxidada (GSSG) e a idade em cada situação, foi também avaliada pelo coeficiente de correlação linear de Pearson (r).

Não se constatou correlação linear significativa entre a idade e T0-Caseinato ($r = -0,0190$; $p = 0,9207$), T0-Glutamina ($r = -0,0496$; $p = 0,7946$), T1-Caseinato ($r = -0,1069$; $p = 0,5740$) e T1-Glutamina ($r = 0,0250$; $p = 0,8958$) (Figura 32).

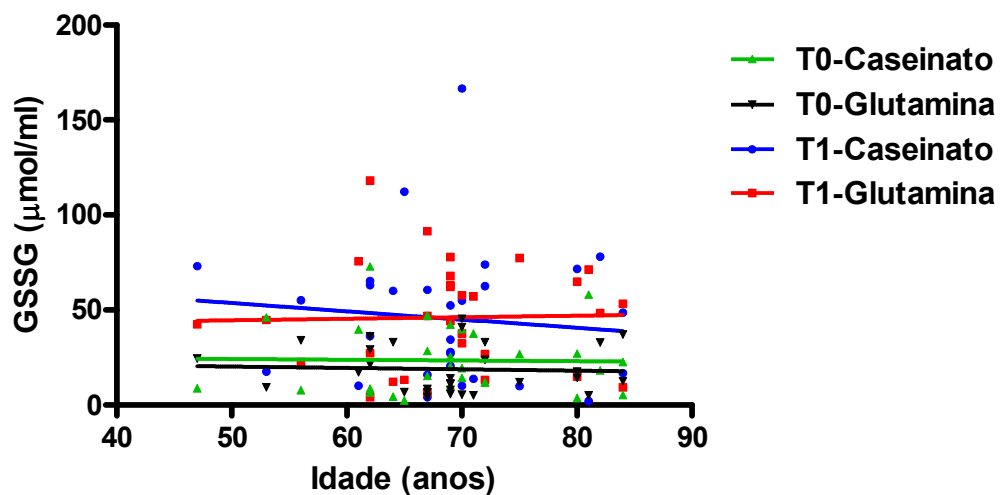


FIGURA 32 – Diagramas de dispersão de GSSG em função da idade relativos aos grupos caseinato e glutamina, considerando os tempos T0 (antes do tratamento) e T1 (após o tratamento).

A associação entre os valores da razão GSH/GSSG e a idade, em cada situação, também foi avaliada pelo coeficiente de correlação linear de Pearson (r). Não se constatou correlação linear significativa entre a idade e T0-caseinato ($r = -0,0563$; $p = 0,7677$), T0-glutamina ($r = -0,0129$; $p = 0,9463$), T1-caseinato ($r = 0,1843$; $p = 0,3295$) e T1-glutamina ($r = 0,0255$; $p = 0,8938$) (Figura 33).

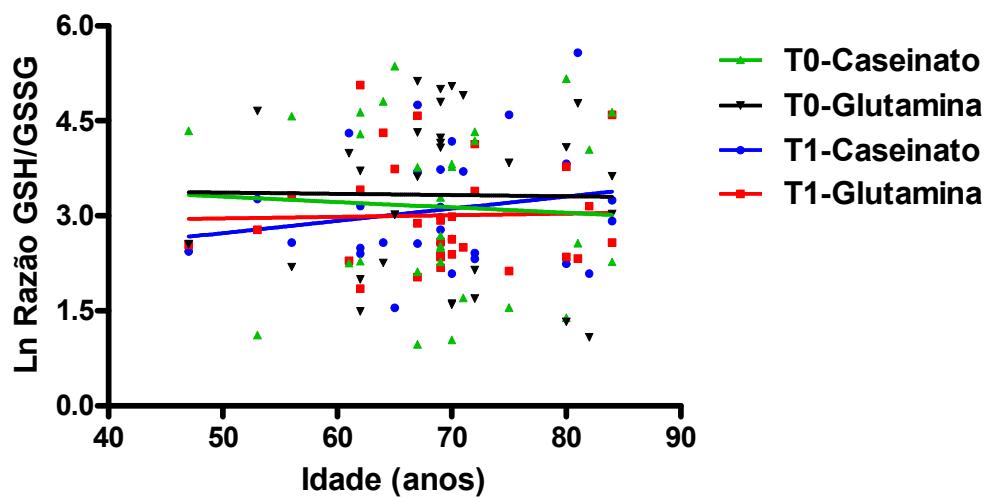


FIGURA 33 – Diagramas de dispersão da razão GSH/GSSG (após transformação com o logaritmo natural) em função da idade, relativos aos grupos caseinato e glutamina, considerando os tempos T0 (antes do tratamento) e T1 (após o tratamento).

A associação entre os valores de TBARS e a idade também foi avaliada pelo coeficiente de correlação linear de Pearson (r). Não se constatou correlação linear significativa entre a idade e T0-caseinato ($r = -0,1117$; $p = 0,5568$), T0-glutamina ($r = -0,1739$; $p = 0,3581$), T1-caseinato ($r = 0,1290$; $p = 0,4968$) e T1-glutamina ($r = -0,1120$; $p = 0,5558$) (Figura 34).

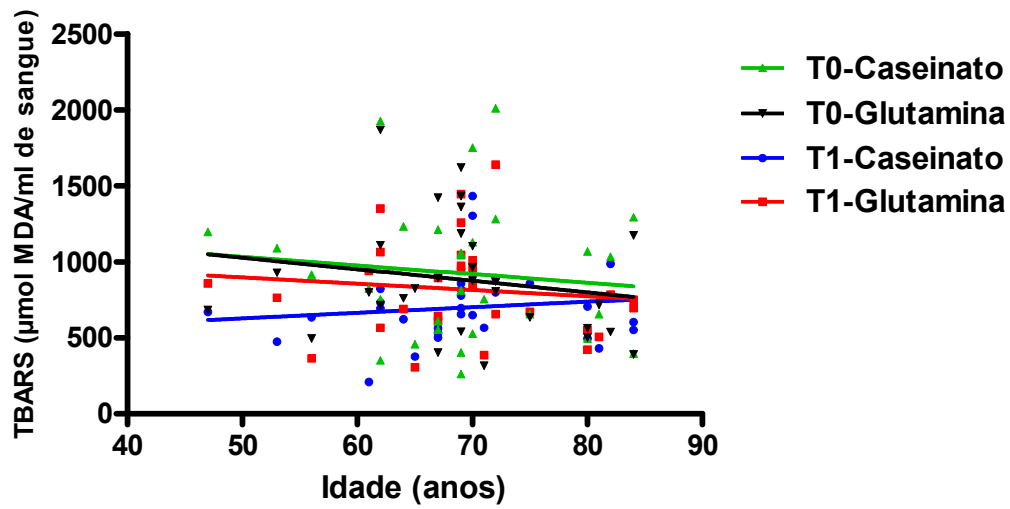


FIGURA 34 – Diagramas de dispersão de TBARS em função da idade relativos aos grupos caseinato e glutamina, considerando os tempos T0 (antes do tratamento) e T1 (após o tratamento).

5 DISCUSSÃO

A Instituição de Longa Permanência denominada “Lar Torres de Melo”, entidade filantrópica onde foi realizado o presente estudo, apresenta características próprias: os idosos independentes vivem em alojamentos semelhantes a pequenos apartamentos, têm atividade social freqüente, a alimentação é a mesma e elaborada sob orientação de nutricionista e a atividade física pode ser controlada, bem como a ingestão de bebida alcoólica.

O ambiente fechado e controlado que seria inadequado para diversos estudos, neste caso se mostrou benéfico, pois o controle dos indivíduos na alimentação, atividade física e na observação clínica de intercorrências diminuiu a presença de viés (PEREIRA 1995; HERRMANN, 2004).

A principal vantagem de um estudo cruzado, em investigações comparativas, é que o indivíduo funciona como seu próprio controle e há a tentativa de neutralização dos fatores de confundimento (PEREIRA, 1995). Por outro lado, a possibilidade de efeito residual de um período para outro, nos estudos de intervenção, é problema a ser sempre considerado.

Os critérios de seleção da amostra pelo Protocolo SENIEUR se apresentam desatualizados pela passagem de tempo desde sua criação. Além disso, contém itens extremamente rígidos, dificultando a seleção da amostra estudada. Em virtude dessas limitações, em nosso estudo e em outros, foram necessárias algumas modificações do protocolo original (LIGTHART *et al.*, 1984; CASTLE; UYEMURA; MAKINODAN, 2001; HERRMANN, 2004).

Há o questionamento de vários autores em relação aos critérios do Protocolo SENIEUR, que não seriam precisos o suficiente para excluir a possibilidade de doença oculta e/ou deficiência nutricional ou outros fatores do meio-ambiente influenciando a resposta imune (REIBNEGGER *et al.*, 1988; MAZARI; LESOURD, 1998; LESOURD; MAZARI, 1999).

Na verdade a definição decorrente é de “idosos aparentemente saudáveis” já que até o momento não está definida uma forma de seleção de amostra de idosos precisa em descartar todas as alterações, até porque essa população apresenta características próprias e muitos fenômenos estão ocultos ou mascarados (REIBNEGGER *et al.*, 1988; LESOURD; MAZARI, 1999; GORZONI; COSTA, 2006).

As características do grupo estudado são semelhantes aos grupos encontrados em outras instituições de longa permanência no Brasil (CHAYMOWICZ; GRECO, 1999;

YAMAMOTO; DIOGO, 2002; DAVIM *et al.*, 2004), diferindo apenas quanto ao gênero, em nosso estudo predominando o sexo masculino.

O tempo estabelecido na literatura para intervenção em indivíduos sob estresse oxidativo importante, decorrente de doenças graves, varia amplamente, de 5 a 28 dias (GARCIA-DE-LORENZO *et al.*, 2003). Nos indivíduos saudáveis, a literatura também mostra grande variabilidade no período de intervenção, desde horas até 2 semanas (ZIEGLER *et al.*, 1990; CASTEL; NEWSHOLME, 1997; VALENCIA; MARIN; HARDY, 2002; CURY-BOAVENTURA *et al.*, 2008). Em face da falta de consenso sobre o período de intervenção, decidimos por um tempo considerado longo, de 14 dias. O período de pausa temporal (*washout period*) foi definido em cinco dias, pois a vida média da glutatona é de cerca de quatro dias nos eritrócitos (VALENCIA; MARIN; HARDY, 2001c; JUNQUEIRA, 2002) e acreditava-se que esse período seria suficiente para não haver efeito residual.

As intercorrências clínicas não foram significantes e não tiveram relação direta com a suplementação, pois apenas um episódio de diarreia ocorreu no período de pausa temporal, e a crise de ansiedade que uma paciente apresentou foi desencadeada por problemas familiares.

O foco recente das terapias antioxidantes é no sentido de reduzir a formação de Espécies Reativas de Oxigênio ou aperfeiçoar o sistema de defesa contra o estresse oxidativo principalmente intensificando sua atividade intracelular. Até o presente momento, a terapia mais eficiente tem sido estimular a síntese de GSH, provendo os pacientes com uma ou várias substâncias precursoras (WESSNER *et al.*, 2003).

Durante muitos anos a cisteína tem sido considerada como precursor limitante *in vivo* da síntese de GSH, a medida que a concentração fisiológica de glutamina excede aquela de cisteína. Entretanto, decréscimos na concentração de glutamina encontrados durante o estresse catabólico reforçam a hipótese de que a glutamina também seria um fator limitante para a síntese de GSH (WESSNER *et al.*, 2003).

A utilização de substâncias em doses nutracêuticas com objetivo de reduzir o risco de doenças e contribuir para a manutenção da saúde ainda não apresenta consenso na literatura (OLAGNERO *et al.*, 2007a). No caso específico da glutamina, não se sabe, com exatidão, qual a dose, a via ideal para suplementação e qual grupo seria mais beneficiado (SACKS, 1999; BONET; GRAU, 2007).

Doses de L-glutamina de até 0,65g/Kg foram consideradas seguras em estudo de intervenção em pacientes críticos (HEYLAND, 2007), o que reforça a viabilidade da dose utilizada no presente estudo (0,5g/Kg).

O preparo à temperatura ambiente e a utilização da suplementação imediatamente pós-preparo foram importantes para manutenção da estabilidade do produto já que alguns dos problemas da utilização de L-glutamina são a instabilidade na esterilização e na estocagem prolongada e a solubilidade limitada (FURST; POGAN; STEHLE, 1997). Optou-se pela diluição em leite em pó (preparo padronizado) para não haver variabilidade no pH, e foi utilizada sempre a mesma água mineral e açúcar no preparo. A opção pelo caseinato de cálcio como controle deveu-se à sua alta digestibilidade e conhecida segurança na utilização em suplementos nutricionais (BAXTER *et al.*, 2004).

O envelhecimento é caracterizado pela diminuição da função de grande parte dos sistemas e pela redução da capacidade de se adaptar a situações de estresse e sobrecarga (PAPALÉO NETO, 2006).

No idoso, em comparação com os jovens, temos redução na chamada “janela terapêutica” e a possibilidade de um efeito terapêutico sem efeitos colaterais diminui drasticamente (WIEMAN, 1986).

O fígado tem sido muito estudado no que se refere aos efeitos do envelhecimento na metabolização de drogas. Redução de até 30% na metabolização de medicamentos na fase I (ação de enzimas monooxigenase microsossomiais que promovem oxidação, redução ou hidrólise da substância original convertendo-a em metabólitos mais polares) é observada com o envelhecimento, porém a redução do fluxo sanguíneo e o uso de substratos pouco representativos interferem nestes estudos. Há pouca alteração na quantidade do sistema P-450, mas estudos demonstram alterações na sua afinidade e efetividade. Deve-se considerar ainda que há grande variabilidade interindividual, diminuindo desta forma a previsibilidade do fenômeno, individualmente (VESTAL, 1989; WYNE, 1989).

No presente estudo, os diversos parâmetros laboratoriais referentes à avaliação hepática (AST, ALT, FA, LDH e albumina) não mostraram alterações estatisticamente significantes contrariando alguns autores (LOCHS; HUBL, 1990; DUDRICK, 1991; HORNSBY-LEWIS *et al.*, 1994; GARLICK, 2001) e mostrando resultados semelhantes aos de outros (ZIEGLER *et al.*, 1990; CASTELL; NEWSHOLME, 1997; JIANG *et al.*, 1999; KLASSEN, 2000; GARLICK, 2001; VALENCIA; MARIN; HARDY, 2002b; ARWERT; DEIJEN; DRENT, 2003; GARLICK, 2004; HEYLAND, 2006; HEYLAND, 2007).

A amônia é um produto do metabolismo de aminoácidos e conseqüentemente do catabolismo protéico. A amônia presente no sangue origina-se de duas fontes principais: 1) processos de desaminação oxidativa e transaminação dos aminoácidos da dieta e dos tecidos; 2) degradação bacteriana de substâncias nitrogenadas presentes no conteúdo intestinal. A

amônia que chega à circulação sistêmica e à veia porta é convertida em uréia no fígado. A concentração de amônia no sangue é geralmente inferior a 120 µg/dL (67 µ mol/L), pois há um eficiente mecanismo hepático de remoção (HENRY, 1999; MILLER, 2003). Falhas neste mecanismo podem resultar em hiperamonemia, seguindo-se a desordens do metabolismo em consequência de mau funcionamento hepático ou de alta ingestão de proteínas. Isso é particularmente verdade no idoso, que apresenta capacidade hepática de remover amônia diminuída (FELIPO; BUTTERWORTH, 2002; VESTAL, 1989; WYNE *et al.*, 1989).

No presente estudo, a concentração de amônia nos dois grupos foi similar após 14 dias de suplementação, pouco elevada em relação aos parâmetros laboratoriais definidos pelo método, porém sem relevância clínica. Essa pequena alteração ocorrida nos dois grupos provavelmente se deveu à dificuldade do fígado envelhecido de metabolizar sobrecargas de aminoácidos e proteínas (VESTAL, 1989; WYNE *et al.*, 1989). No estudo de Ziegler (1990) em que foram coletadas informações sobre vários estudos de suplementação com L-glutamina em voluntários por diversas vias e por períodos diversos de tempo, os níveis de amônia permaneceram normais. Por outro lado, Bassini-Cameron *et al.* (2008) demonstraram que a utilização de suplementação de L-glutamina em jogadores de futebol exerceu efeito protetor contra hiperamonemia induzida pelo exercício, dependendo da intensidade do exercício e da duração da suplementação.

No processo de envelhecimento normal são observadas perdas funcionais no rim a partir dos 40 anos de idade. Há redução de 1 mL/ano ou de 7,5 a 8mL/min/década na estimativa do Risco de Filtração Glomerular (eRFG) (LOCHS; HÜBL, 1990; BERG, 2006). Isto decorre de alterações morfológicas no rim como: diminuição de néfrons funcionantes, aumento do número/percentagem de glomérulos esclerosados, espessamento da membrana basal glomerular e diminuição progressiva com posterior aumento do volume de glomérulos intactos (DAVIES, 1950; BECK, 2000). A redução do volume plasmático, observada na população idosa, torna-a mais vulnerável à ação de nefrotoxinas (SILVA, 2005). O tempo de uso de uma substância também tem influência na nefrotoxicidade, como tem sido demonstrado na literatura (COFFMAN, 2001; RAVEH *et al.*, 2002; WERNECK DE CARVALHO, 2008; LEMOS, 2008).

Estudos realizados em crianças, adultos jovens e indivíduos de meia idade demonstraram segurança do uso de glutamina (ZIEGLER, 1990; CASTELL; NEWSHOLME, 1997; VALENCIA; MARIN; HARDY, 2002b; ARWERT, DEIJEN, DRENT, 2003; HEYLAND, 2006; HEYLAND, 2007).

A alteração observada nos níveis de uréia nos dois grupos no presente estudo se deveu provavelmente ao aumento do aporte de aminoácidos e proteínas em altas doses e dificuldade dos rins envelhecidos de metabolizar essa sobrecarga. Resultado semelhante já foi observado em pacientes adultos criticamente doentes (HEYLAND, 2007).

O aumento observado nos níveis de creatinina sérica foi estatisticamente significativo no grupo glutamina. Devido à imprecisão da avaliação da função renal na população de idosos pela creatinina, foi realizada a estimativa do Ritmo de Filtração Glomerular (eRFG) pela fórmula de Cockcroft-Gault (COCKROFT; GAULT, 1976; RAVEH *et al.*, 2002). Por esse parâmetro a alteração persistiu e houve modificação de alteração leve para moderada. Apesar de a alteração ser estatisticamente significativa, não há significado clínico, pois são consideradas significativas alterações na função renal de no mínimo de 25% dos valores iniciais (SILVA, 2005), e no atual estudo as alterações foram em média de 13,3% no grupo glutamina e 2,9% no grupo caseinato de cálcio.

Alterações nos níveis de creatinina com suplementação de glutamina já foram observadas em estudo com doentes críticos adultos jovens. Devido à gravidade dos pacientes, muitas dessas alterações se iniciaram previamente à suplementação, pelo quadro clínico já comprometido (HEYLAND, 2006).

Observou-se correlação negativa observada no grupo glutamina entre a estimativa do Ritmo de Filtração Glomerular e a idade, ou seja: à medida que a idade aumenta, a estimativa do Ritmo de Filtração Glomerular diminui. Esse achado reproduz dados observados na literatura de que quanto mais idoso o rim, maior o nível de comprometimento, mesmo com níveis de creatinina dentro dos parâmetros de normalidade. Também reforça o conceito de que, além do tempo de uso de uma substância, a idade e o consumo protéico interferem na nefrotoxicidade (HADJ-AÏSSA *et al.*, 1990; RAVEH *et al.*, 2002; CIRILLO; ANASTASIO; SANTOS, 2005; CORSONELLO *et al.*, 2005; WERNECK DE CARVALHO, 2008).

A utilização de L-glutamina em dose nutracêutica (0,5g/Kg/dia) em indivíduos de meia-idade e idosos se mostra segura, porém é prudente um monitoramento constante da função renal devido às características próprias desta população. Esse cuidado deve ser redobrado nos pacientes agudamente enfermos, pois na população de idosos é comum a presença de co-morbidades e *polifarmácia*, os quais podem aumentar a possibilidade de nefrotoxicidade (WERNECK DE CARVALHO, 2008).

A diminuição dos níveis de hematócrito e hemoglobina observada nos dois grupos, apesar de estatisticamente significativa, não tem importância clínica, pois são mantidas as taxas dentro dos níveis considerados normais.

O aumento do número de linfócitos, em termos absolutos, observado tanto no grupo glutamina quanto no grupo caseinato, pode ser decorrente do fato de que com as suplementações realizadas muitos micronutrientes foram repostos, o que confirmaria dados da literatura de que há melhora da função imune (NOVAES *et al.*, 2005).

O aumento do número de linfócitos em termos percentuais, predominante no grupo glutamina, é explicado pelo fato de que a glutamina é descrita como combustível para algumas células do sistema imune, tais como linfócitos e macrófagos. Os efeitos imunoestimulatórios podem ser explicados pelo aumento da atividade fagocítica, que é dose-dependente de glutamina. Há também efeitos benéficos sobre a apoptose e um aumento da atividade linfocitária (CASTEL; NEWSHOLME, 1993; BOZA *et al.*, 2000; ROTH *et al.*, 2002; BONET, GRAU, 2007; ROTH, 2007; CURY-BOAVENTURA *et al.*, 2008).

O aumento da pré-albumina observado no grupo caseinato de cálcio pode ser explicado pelo fato de que os idosos receberam uma proteína e não apenas um aminoácido. A taxa de síntese de pré-albumina é muito sensível à ingestão de nutrição adequada e às alterações na função do fígado, onde ela é produzida. As concentrações séricas de pré-albumina flutuam mais rapidamente em resposta às alterações da taxa de síntese do que as outras proteínas, pois ela tem uma meia-vida curta na circulação (cerca de 2 dias). Devido à rápida dinâmica de sua síntese e liberação ela é considerada como excelente indicador precoce da modificação do estado nutricional (HENRY, 1999).

Na avaliação do impacto sobre via glicolítica e ação secretagoga de insulina não foram observadas alterações, provavelmente porque os benefícios mais evidentes sobre esta via ocorrem em situações de estresse metabólico (NEWSHOLME *et al.*, 2003; BAKALAR *et al.*, 2006).

No processo de envelhecimento normal são observadas alterações biológicas e funcionais que interferem na alimentação e nutrição do idoso. Podemos citar alguns como: comprometimento de mastigação e deglutição, aumento do tecido adiposo, redução da massa muscular, redução da água corporal total, perda do paladar e olfato, diminuição da produção de pepsina e ácido clorídrico com redução da ingestão de alimentos, e deficiência de absorção de diversos nutrientes. Além disso, não deve ser descartada a possibilidade de deficiência de micronutrientes mesmo em idosos aparentemente saudáveis (NOVAES *et al.*, 2005; NAJAS; PEREIRA, 2006).

Como descrito anteriormente um aumento progressivo no estresse oxidativo e um declínio generalizado nas defesas antioxidantes são associados frequentemente com o envelhecimento e com doenças degenerativas relacionadas à idade. Entretanto, há uma limitação em distinguir entre o aumento da geração de oxidantes e a diminuição da capacidade antioxidante como fatores que contribuem para progressão de doenças. Há evidências que o processo oxidativo cause danos irreversíveis a macromoléculas e rompimento dos mecanismos de sinalização da redução (AMES; SHIGENAGA; HAGEN, 1993; BECMAN; AMES, 1998).

Os níveis de lipoperoxidação tecidual foram analisados no plasma através da produção de substâncias que reagem com o ácido tiobarbitúrico (TBARS), principalmente o malondialdeído (MDA). A medida do TBARS é um método estabelecido para avaliação e monitoramento da peroxidação lipídica, sendo que varias modificações têm sido realizadas por pesquisadores no sentido de aperfeiçoá-la, tanto para avaliações em tecidos como em fluídos (PRIOR; GODBER, 1991; OHKAWA; OHISHI; YAGI, 1998).

No método utilizado no presente estudo para avaliação da lipoperoxidação, o produto formado pela reação do malondialdeído (MDA) com o ácido tiobarbitúrico (TBA) sob alta temperatura (90-100° C) e condições de acidez forma um complexo colorido que pode ser quantificado espectrofotometricamente (absorvância a 530-540nm), sendo recomendado descrever os valores de peróxido lipídico expressos em termos de malondialdeído (DRAPER *et al.*, 1993; YAGI, 1998).

Há limitações na avaliação da lipoperoxidação por esse método e quatro fatores devem ser considerados neste teste: 1) a influência das condições da reação e dos reagentes na resposta do ácido tiobarbitúrico (TBA); 2) a não especificidade do TBA para a reação com o malondialdeído (MDA); 3) a não exclusividade do MDA como produto final da lipoperoxidação; 4) a impossibilidade de se distinguir o complexo MDA:TBA dos outros produtos reativos ao TBA por espectrofotometria (BENZIE, 1996; LIMA; ABDALLA, 2001).

Apesar de o método ser de fácil execução, é mais útil na informação da extensão da lipoperoxidação em sistemas simples *in vitro*, sendo sua utilização na análise de fluídos biológicos ainda limitada, sem método alternativo ideal para avaliá-lo por completo disponível no momento (ESTERBAUER *et al.*, 1984; DRAPER *et al.*, 1993; LIMA; ABDALLA, 2001).

No presente trabalho, o que se observou foi uma redução nos níveis de TBARS apenas no grupo que recebeu suplementação de caseinato de cálcio, e quando se analisaram as retas de regressão do TBARS em função da idade, houve significância também no grupo

caseinato. Esses dados contrariam dados de literatura, apesar de grupos com características diferentes, após suplementação oral de L-glutamina em indivíduos com câncer da cavidade oral, houve redução da peroxidação lipídica (DAS *et al.*, 2007).

Vários estudos demonstram que alterações nos níveis de GSH (glutathiona reduzida) no sangue poderiam fornecer uma medida efetiva para medida do estresse oxidativo *in vivo* (JONES; BROWN; STEMBERG, 1995; SMITH *et al.*, 1996; PRIOR; GODBER, 1991).

Mecanismos fisiológicos como envelhecimento e exercício extenuante apresentam um decréscimo nos níveis de GSH no plasma que pode ser associado com estresse oxidativo e/ou decréscimo da capacidade antioxidante (KRETZSCHMAR; MUELLER, 1993; SAMIEC *et al.*, 1998).

Por outro lado, outros estudos indicam que a concentração plasmática de GSH pode não ser um indicador de estresse oxidativo *in vivo*. Como exemplo, temos que a deficiência protéico-calórica resulta em decréscimo dos níveis de GSH plasmático, provavelmente devido a decréscimo da disponibilidade de aminoácidos requeridos para sua síntese (TAYLOR, 1992).

Deste modo, dados avaliados indicam que a concentração de GSH plasmática sozinha pode não fornecer uma medida útil *in vivo* do estresse oxidativo. Uma alternativa próxima inclui tanto a glutathiona reduzida (GSH) como glutathiona dissulfido ou glutathiona oxidada (GSSG) em uma expressão para quantificar a dinâmica do balanço entre oxidantes e antioxidantes. O cálculo da razão GSH/GSSG é uma das formas e a outra é o cálculo do potencial redox (potencial de redução) pela equação de Nerst (O'CONNOR, 1977; MASTERTON, 1978; KIRLIN *et al.*, 1999; JONES *et al.*, 2002).

A equação de Nerst, desenvolvida por Walter Nerst, químico e físico alemão em 1889, relaciona potencial de pilha (ou de eletrodo), temperatura e concentrações de reagentes. Não é objetivo, neste estudo, explicar a dedução desta fórmula, mas sabe-se que esta equação é uma das relações mais úteis dentro do campo da eletroquímica e tem sido usada para cálculos em titulações de oxi-redução. A equação de Nerst pode ser usada para valores de E_0 em temperaturas diferentes, porém como a maior parte do trabalho eletroquímico é efetuada a cerca de 25° C é utilizado 298° K. O potencial padrão de E_0 para a dupla GSH/GSSG foi - 264mV, baseado no valor de - 240mV para pH 7,0 e um efeito pH de - 59mV/pH unidade (O'CONNOR, 1977; JONES *et al.*, 2002). No presente estudo o cálculo do potencial de redução pela equação de Nerst não mostrou diferenças em ambos os grupos, confirmando os dados já observados no cálculo da razão GSH/GSSG.

Para avaliação do estresse oxidativo, foram utilizadas ainda as dosagens de Glutathione Total e cálculo da razão GSH/GSSG, sendo que para esse cálculo foi necessário dosar os níveis de glutathione oxidada (GSSG) e de “glutathione total” (GSHt), com posterior cálculo da glutathione reduzida (GSH).

Como foi descrito anteriormente a GSH reage com o peróxido de hidrogênio, tornando-se oxidada (GSSG) sob a ação da glutathione peroxidase; e posteriormente a GSSG, sob ação da glutathione reductase, é reduzida novamente (VALENCIA; MARIN; HARDY, 2001b; JUNQUEIRA, 2002; OPARA, 2006).

No cálculo da razão GSH/GSSG, quanto maior a glutathione oxidada (GSSG), menor é a razão. No presente estudo não houve alteração significativa na razão, pois foi observado aumento tanto na glutathione reduzida (GSH), quanto na oxidada (GSSG), demonstrando que não houve melhora na capacidade de antioxidação no sistema glutathione.

Quando analisados os grupos caseinato e glutamina, a Glutathione Total apresentou uma redução no grupo caseinato estatisticamente significante.

Os níveis de “glutathione total” (GSHt) aumentaram significativamente, tanto no grupo glutamina quanto no grupo caseinato. No entanto, como os níveis de glutathione oxidada (GSSG) também aumentaram nos dois grupos, não houve alteração da razão GSH/GSSG.

Não houve correlação significativa de nenhum dos parâmetros avaliados com a idade, contrariando clássico trabalho de Jones *et al.* (2002), que mostrou correlação da razão GSH/GSSG com a idade. Sendo que no estudo de Jones os indivíduos não foram submetidos a nenhuma suplementação, apenas avaliou-se a correlação dos parâmetros com a idade.

Em relação a lipoperoxidação o que se observa é uma redução do TBARS no grupo caseinato. Estes dados poderiam ser explicados pela reposição de micronutrientes com a suplementação de caseinato de cálcio e leite. Estes dados são reforçados pelos estudos de Tolonen *et al.* (1985, 1988) realizados em idosos institucionalizados, em que foi feita suplementação com vitaminas e houve redução da lipoperoxidação.

As principais limitações no presente estudo foram: apesar da seleção ter sido feita de acordo com o Protocolo SENIEUR com modificações, ainda é questionável se não haveria doenças ocultas não diagnosticadas, fato muito comum nos idosos. A utilização do caseinato de cálcio, apesar de suas características de boa digestibilidade e absorção pode prejudicar o caráter duplo-cego da amostra: o caseinato de cálcio é mais leve que a glutamina, portanto para o mesmo peso é necessário um volume maior, o que em algumas situações tornou o preparado mais espesso. No presente estudo, os pacientes consideraram apenas que o leite estava “mais forte” e não houve prejuízo, mas para outras situações o uso do caseinato deve

ser revisto. A instituição de um terceiro grupo utilizando apenas leite teria sido extremamente importante, pois havia um grupo utilizando L-glutamina (aminoácido), um grupo utilizando caseinato de cálcio (proteína), e outro grupo utilizando apenas o leite para análise do efeito de provável deficiência de micronutrientes que seriam repostos com o próprio leite. O desenho do estudo como cruzado apresenta limitações, pois a possibilidade de efeito residual está sempre presente neste tipo de estudo.

Apesar de todas as limitações descritas, algumas questões são levantadas: a suplementação tanto de L-glutamina quanto de caseinato de cálcio apresentaria benefício apenas por um curto período de tempo, havendo depois no organismo uma auto-regulação e tentativa de retornar aos parâmetros anteriores? Os benefícios antioxidantes da suplementação só ocorreriam após a reposição de substâncias que estariam deficientes nesta população suscetível a dificuldades de avaliação nutricional adequada? A glutamina, por ser um aminoácido “condicionalmente essencial”, causaria benefícios de seu uso em população de indivíduos saudáveis, ou seu benefício estaria restrito às situações de estresse, como descrito na literatura?

O aumento dos níveis de uréia, creatinina e a redução da eRFG devem-se ao aporte de altas doses de aminoácidos e proteínas e à dificuldade dos rins envelhecidos de metabolizar essa sobrecarga. Os aumentos, apesar de clinicamente insignificantes, impõem monitoramento constante da função renal.

A não melhoria da capacidade antioxidante direciona para a necessidade da avaliação de deficiência de outros fatores nutricionais associados. Também aponta para o fato de que a suplementação de L-glutamina, um aminoácido “condicionalmente essencial”, teria efeito benéfico comprovado em situações de estresse e que o estresse oxidativo próprio do envelhecimento, não seria suficiente para justificar o uso rotineiro de suplementação oral de glutamina.

Numa população aparentemente saudável o tempo de suplementação seria um fator limitante, o que merece novos estudos e questionamentos. Estudos estes, com doses menores e avaliação do risco e benefício, estudos com tempos variáveis e a utilização de dipéptidos.

Com o envelhecimento progressivo, muito há o que investigar nesta população: resposta à suplementação nutricional em idosos nas situações de estresse, marcadores bioquímicos mais específicos e precisos para avaliação nutricional e o papel dos nutrientes na estabilidade do DNA e no processo de expressão gênica, entre outros, se impõem como fronteiras a serem exploradas para o benefício do segmento populacional que mais cresce no mundo.

6 CONCLUSÃO

- A suplementação via oral de L-glutamina, em doses nutracêuticas, em indivíduos de meia-idade e idosos, na ausência de estresse adicional, não altera o padrão das reações orgânicas de estresse oxidativo, próprias do envelhecimento, não justificando portanto, seu uso nestas situações.
- A suplementação via oral de L-glutamina, em doses nutracêuticas impõe controle rigoroso dos parâmetros de avaliação da função renal.
- A suplementação de L-glutamina não altera a capacidade de antioxição do sistema glutathiona avaliada pela relação GSH/GSSG.
- A suplementação de L-glutamina não altera a peroxidação lipídica.
- A suplementação de L-glutamina não tem impacto sobre as vias glicolítica e secretagoga de insulina.
- Não há associação da capacidade antioxidante do sistema glutathiona e idade com suplementação de L-glutamina.

7 REFERÊNCIAS

ALMADA FILHO, C. M. Antioxidantes e Radicais Livres. *In*: FREITAS, E. V.; PY, L.; NERI, A. L.; CANÇADO, F. A. X.; GORZONI, M. L.; ROCHA, S. M. **Tratado de Geriatria e Gerontologia**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002. cap. 89, p. 744 - 748.

ALVES, W. F. **Efeitos da L-alanil-glutamina sobre as concentrações sanguíneas e teciduais in vivo de metabólitos e enzimas em pacientes com isquemia dos membros inferiores submetidos a revascularização distal**. Fortaleza, 2004. 126 p. Tese (Doutorado em Cirurgia) - Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Ceará.

AMES, B. N.; SHIGENAGA, M. K.; HAGEN, T. M. Oxidants, antioxidants and degenerative diseases of aging. **Proceedings of the National Academy Sciences**, v. 90, p. 7915 - 7922, 1993.

ARMITAGE, P.; BERRY, G. **Statistical methods in medical research**. 3. ed. Oxford: Blackwell, 1994, 620 p.

ARMSTRONG, D.; BROWNE R. The analysis of free radicals, lipid peroxides, antioxidant enzymes and compounds related to oxidative stress as applied to the clinical chemistry laboratory. *In*: ARMSTRONG, D. **Free Radicals in Diagnostic Medicine**. New York: Plenum Press, 1994. p. 43 - 58.

ARWERT, L. I.; DEIJEN, J. B., DRENT, M. L. Effects of an oral mixture containing glycine, glutamine and niacin on memory, GH and IGF-I secretion in middle-aged and elderly subjects. **Nutritional Neuroscience**, v. 6, n. 5, p. 269 - 275, 2003.

BAKALAR, B.; DUSKA, F.; PACHL, D.; FRIC, M.; OTAHAL, M.; PAZOUT, J.; ANDEL, M. Parenterally administered dipeptide alanyl-glutamine prevents worsening of insulin sensitivity in multiple-trauma patients. **Critical Care Medicine**, v. 6, n. 2, p. 381 - 386, 2006.

BARETTA, E.; BARETTA, M.; PERES, K. G. Nível de atividade física e fatores associados em adultos no Município de Joaçaba, Santa Catarina, Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 23, n. 7, p. 1595 – 1602, 2007.

BASSINI-CAMERON, A.; MONTEIRO, A.; GOMES, A.; WERNECK-DE-CASTRO, J. P.; CAMERON, L. Glutamine protects against increases in blood ammonia in football players in an exercise intensity-dependent way. **British Journal of Sports and Medicine**, v. 42, n. 4, p. 260 - 266, 2008.

- BAXTER, Y. A.; WAITZBERG, D. L.; GAMA-RODRIGUES, J. J.; PINOTTI, H. W. Critérios na seleção de dietas enterais. *In*: WAITZBERG, D. L. **Nutrição oral, enteral e parenteral na prática clínica**. 3. ed. São Paulo: Editora Atheneu, 2004. v. 1, cap 41, p.659 - 676.
- BAYIR, H. Reactive oxygen species. **Critical Care Medicine**, v. 33, n. 12, p. 498 - 501, 2005.
- BECK, L.H. The aging kidney - Defending a delicate balance of fluid and electrolytes. **Geriatrics**, v. 55, n. 4, p. 26 - 32, 2000.
- BECMAN, K. B.; AMES, B. N. The free radical theory of aging natures. **Physiological Reviews**, v. 78, p. 547 - 581, 1998.
- BENZIE, I. F. F. Lipid peroxidation: a review of causes, consequences, measurements and dietary influences. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, v. 47, p. 233 - 261, 1996.
- BERG, U. B. Differences in decline in GFR with age between males and females. References data on clearance of inulina and PAH in potential kidney donors. **Nephrology, Dialysis, Transplantation**, v. 21, p. 577 - 582, 2006.
- BIOLO, G.; ANTONIONE, R.; DE CICCIO, M. Glutathione metabolism in sepsis. **Critical Care Medicine**, v. 35, n. 9, (Suppl.), p. 591 - 595.
- BONET, A.; GRAU, T. La glutamine, un aminoácido casi indispensable en el enfermo crítico. **Medicina Intensiva**, v. 31, p. 402 - 406, 2007.
- BOZA, J. J.; MAIRE, J.-C.; BOVETTO, L.; BALLÈVRE, O. Plasma glutamine response to enteral administration of glutamine in human volunteers (Free glutamine versus protein-bound glutamine). **Nutrition**, v. 16, p. 1037 - 1042, 2000.
- BOZZETTI, F.; BIGANZOLI, L.; GAVAZZI, C.; CAPPUZZO, F.; CARNAGHI, C.; BUZZONI, R.; DIBARTOLOMEO, M.; BAIETTA, E. Glutamine supplementation in cancer patients receiving chemotherapy: a double-blind randomized study. **Nutrition**, v. 13, n. 7/8, p. 748 - 751, 1997.
- BRASIL. Decreto nº 1948. Regulamenta a Lei nº 8842 de 4 de janeiro de 1994 – Política Nacional do Idoso. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**. Brasília (DF): 5 jan. 1996. Seção 1, p. 77 - 79.

BURTIS, C. A., ASHWOOD, E. R. **Tietz Textbook of Clinical Chemistry**. 2.nd ed. Philadelphia: WB Saunders Co 1994.

CASTELL, L. M.; NEWSHOLME, E. A. The effects of oral glutamine supplementation on athletes after prolonged, exhaustive exercise. **Nutrition**, v. 13, n. 7/8, p. 738 - 742, 1997.

CASTLE, S. C.; UYEMURA, K.; MAKINODAN, T. The SENIEUR Protocol after 16 years: a need for a paradigm shift? **Mechanisms of Ageing and Development**, v. 122, p. 127 - 140, 2001.

CHAYMOVICZ, F.; GRECO, D. Dinâmica da institucionalização de idosos em Belo Horizonte, BRASIL. **Revista de Saúde Pública**, v. 33, n. 5, p. 454 - 460, 1999.

CIRILLO, M.; ANASTASIO, P.; SANTO, N. G. Relationship of gender, age, and body mass index to errors in predicted kidney function. **Nephrology , Dialysis and Transplantation**, v. 20, p. 1791 - 1798, 2005.

COCKCROFT, D. W.; GAULT, M. H. Prediction of creatinine clearance from serum creatinine. **Nephron**, v. 16, p. 31 - 41, 1976.

COELHO FILHO, J. M.; RAMOS, L. R. Epidemiologia do envelhecimento no Nordeste do Brasil: resultados de inquérito domiciliar. **Revista de Saúde Pública**, v. 33, n. 5, p. 445 - 453, 1999.

COFFMAN, T. M. Renal failure caused by therapeutic agents. *In*: GREENBERG A. **Primer on kidney diseases**. San Diego: Academic Press; 2001, p. 251 - 257.

CONEJERO, R.; BONET, A.; GRAU, T.; ESTEBAN, A.; MESEJO, A.; MONTEJO, J. C.; LÓPEZ, J.; ACOSTA, J. A. Effect of a glutamine-enriched enteral diet on intestinal permeability and infectious morbidity at 28 days in critically ill patients with systemic inflammatory response syndrome: a randomized, single-blind, prospective, multicenter study. **Nutrition**, v. 18, p. 716 - 721, 2002.

CORSONELLO, A.; PEDONE, C.; CORICA, F.; MUSSI, C.; CARBONIN, P.; INCALZI, R. A. Concealed renal insufficiency and adverse drug reactions in elderly hospitalized patients. **Archives of Internal Medicine**, v. 165, p. 790 - 795, 2005.

CURI, R.; LAGRANHA, C. J. ; DOI, S. Q. ; SELLITI, D. F. ; PROCOPIO, J. ; PITHON-CURI, T.C. ; CORLESS, M. ; NEWSHOLME, P. Molecular mechanisms of glutamine action. **Journal of Cellular Physiology**, v. 204, p. 392 - 401, 2005.

CURI, R. **Glutamina**: Metabolismo e aplicações clínicas e no esporte. Rio de Janeiro: Sprint, 2000. 261p.

CURY-BOAVENTURA, M. F.; LEVADA-PIRES, A. C.; FOLADOR, A.; GORJÃO, R.; ALBA-LOUREIRO, T. C.; HIRABARA, S. M.; PERES, F. P.; SILVA, P. R. S.; CURI, R.; PITHON-CURI, T. C. Effects of exercise on leukocyte death: prevention by hydrolyzed whey protein enriched with glutamine dipeptide. *European Journal of Applied Physiology*, v. 103, p. 289 – 294, 2008.

CYNOBER, L. Glutamine as an activator of immune cells: How does it work? *Nutrition*, v. 13, n. 7/8, 1997.

DANIELE, B.; PERRONE, F.; GALLO, C.; PIGNATA, S.; DE MARTINO, S.; DE VIVO, R.; BARLETTA, E.; TAMBARO, R.; ABBIATI, R.; D'AGOSTINO, L. Oral glutamine in the prevention of fluorouracil induced intestinal toxicity: a double blind, placebo controlled, randomised trial. *Gut*, v. 48, p. 28 - 33, 2001.

DAS, S.; KAR, M. S.; GAUTAM, N.; DAS, A.; ROY, S. Oxidative stress in lymphocytes, neutrophils, and serum of oral cavity cancer patients: modulatory array of L-glutamine. *Support Care Cancer*, v. 15, n. 12, p. 1399 - 1405, 2007.

DAVIES, D. F.; SHOK, N. W. Age changes in glomerular filtration rate: effective renal plasma flow and tubular excretory capacity in adult males. *The Journal of Clinical Investigation*, v. 29, p. 449 - 507, 1950.

DAVIM, R. M.; TORRES, G. V.; DANTAS, S. M. M.; LIMA, V. M. Estudo com idosos de instituições asilares no município de Natal/RN: características socioeconômicas e de saúde. *Revista Latino-americana de Enfermagem*, v. 12, n. 3, p. 518 - 524, 2004.

DÉCHELOTTE, P.; HASSELMANN, M.; CYNOBER, L.; ALLOUNICHE, B.; COËFFIER, M.; HECKETSWEILER, B.; MERLE, V.; MAZEROLLES, M.; SAMBA, D.; GUILLOU, Y. M.; PETIT, J.; MANSOOR, O.; COLAS, G.; COHENDY, R.; BARNOUD, D.; CZERNICHOW, P.; BLEICHNER, G. L-alanyl-L-glutamine dipeptide-supplemented total parenteral nutrition reduces infectious complications and glucose intolerance in critically ill patients: the French controlled, randomized, double-blind, multicenter study. *Critical Care Medicine*, v. 34, n. 3, p. 598 - 604, 2006.

DRAPER, H. H.; SQUIRES, E.J.; MAHMOODI, H.; WU, J.; AGARWAL, S.; HADLEY, M. A comparative evaluation of thiobarbituric acid methods for the determination of malondialdehyde in biological materials. *Free Radical Biology & Medicine*, v. 15, p. 353 - 363, 1993.

DRÖGE, W. Oxidative stress and ageing: is ageing a cysteine deficiency syndrome? **Philosophical Transactions of the Royal Society**, v. 360, p. 2355 - 2372, 2005.

DUDRICK, P. S.; SOUBA, W. W. Amino acids in surgical nutrition - Principles and practice. **The Surgical Clinics of North America**, v. 71, n. 3, p. 459 - 475, 1991.

ELIA, M. Glutamine metabolism in human adipose tissue in vivo. **Clinical Nutrition**, v. 12, p. 51 - 53, 1993.

ESTERBAUER, H.; Lang, J.; Zadavec, S.; Slater, T. F. Detection of malonaldehyde by high-performance liquid chromatography. **Methods in Enzymology**, v. 105, p. 319 - 328, 1984.

FELIPO V.; BUTTERWORTH, R. F. Neurobiology of ammonia. **Progress in Neurobiology**, v. 67, p. 259 - 279, 2002.

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

FREE, A. H, FREE, H. M. Urinalysis, Critical Discipline of Clinical Science. **Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences**, v. 3, n. 4, p. 481 - 531, 1972.

FUENTES-OROZCO, C.; ANAYA-PRADO, R.; GONZÁLEZ-OJEDA, A.; ARENAS-MÁRQUEZ, H.; CABRERA-PIVARAL, C.; CERVANTES-GUEVARA, G.; BARRERA-ZEPEDA, L. M. et al. L-Alanyl-L-glutamine-supplemented parenteral nutrition improves infections morbidity in secondary peritonitis. **Clinical Nutrition**, v. 23, p. 13 - 21, 2004.

FUNDAÇÃO INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Censo demográfico**. Rio de Janeiro: 1973.

FUNDAÇÃO INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Censo demográfico de 1991: análises preliminares**. Rio de Janeiro, 1992.

FÜRST, P., POGAN, K., STEHLE, P. Glutamine dipeptides in clinical nutrition. **Nutrition**, v. 13, n. 7/8, p. 731 - 737, 1997.

GAO Z. Y.; LI, G.; NAJAFI, H. ; WOLF, B. A. ; MATSCHINSKY, F. M. Glucose regulation of glutaminolysis and its role in insulin secretion. **Diabetes**, v. 48, n. 8, p. 1535 - 1542, 1999.

GARCEZ-LEME, L. E.; LEME, M. D.; ESPINO, D. V. Geriatrics in Brazil: a big country with big opportunities. **Journal of American Geriatrics Society**, v. 53, p. 2018 - 2022, 2005.

GARCÍA-DE-LORENZO, A.; ZARAZAGA, A.; GARCÍA-LUNA, P. P.; GONZÁLEZ-HUIX, F.; LÓPEZ-MARTINEZ, J.; MIJÁN, A.; QUECEDO, L.; CASIMIRO, C.; USÁN, L.; LLANO, J. Clinical evidence for enteral nutritional support with glutamine: a systematic review. **Nutrition**, v. 19, p. 805 - 811, 2003.

GARDNER, M. L. G.; EARL, S. D.; WOOD, D. Elemental diets in the repair of small intestinal damage. **Nutrition**, v. 13, n. 7/8, p. 755 - 759, 1997.

GARLICK, P. J. Assessment of the safety of glutamine and other amino acids. **The Journal of Nutrition**, v. 131, p. 2556S - 2561S, 2001.

GARLICK, P. J. The nature of human hazards associated with excessive intake of amino acids. **The Journal of Nutrition**, v. 134, p. 1633S - 1639S, 2004.

GELLA, F. J.; OLIVELLA, T.; CRUZ PASTOR, M.; ARENAS, J.; MORENO, R.; DURBAN, R.; GOMEZ, J. A. A simple procedure for routine determination of aspartate aminotransferase and alanine aminotransferase with pyridoxal phosphate. **Clinical Chimica Acta**, v. 153, n. 3, p. 241 - 247, 1985.

GORZONI, M. L.; COSTA, E. F. A. Manifestações atípicas de doenças em idosos. *In*: FREITAS, E. V.; PY, L.; CANÇADO, F. A. X. ; DOLL, J.; GORZONI, M. L. **Tratado de Geriatria e Gerontologia**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2006, cap. 90, p. 865 - 869.

GRIFFITH, O. W. Biologic and pharmacologic regulation of mammalian glutathione synthesis. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 27, n. 9/10, p. 922 - 935, 1999.

GRIFFITHS, R. D.; JONES, C.; PALMER, T. E. A. Six-month outcome of critically ill patients given glutamine-supplemented parenteral nutrition. **Nutrition**, v. 13, n. 4, p. 295 - 302, 1997.

GRIFFITHS, R. D.; ALLEN, K. D. ; ANDREWS, F. J.; JONES, C. Infection, multiple organ failure, and survival in the intensive care unit : influence of glutamine-supplemented parenteral nutrition on acquired infection. **Nutrition**, v. 18, p. 546 - 552, 2002.

GRIMBLE, R. F. Immunonutrition. **Current Opinion in Gastroenterology**, v. 21, p. 216 - 222, 2005.

HADJ-AÏSSA, A.; DUMAREST, C.; MAIRE, P.; POZET, N. Renal function in the elderly. **Nephron**, v. 54, p. 364 - 365, 1990.

HENRY, J. B. **Diagnósticos Clínicos e Tratamento por Métodos Laboratoriais**. 2. ed. São Paulo: Manole Ltda 1999. 1552 p.

HERRMANN, F. R. Geriatric epidemiology: practical considerations when involving elderly subjects in studies. **Swiss Medical Weekly**, v. 134, p. 117 - 125, 2004.

HEYLAND, D. K. ; DHALIWAL, R. ; DAY, A.; DROVER, J.; COTE, H.; WISCHMEYER, P. Optimizing the dose of glutamine dipeptides and antioxidants in critically ill patients : a phase I dose-finding study. **Journal of Parenteral and Enteral Nutrition**, v.31, n. 2, p. 109 - 118, 2007.

HEYLAND, D.K.; DHALIWAL, R.; DAY, A.G.; MUSCEDERE, J.; DORVER, J.; SUCHNER, U.; COOK, D. Reducing Deaths due to Oxidative Stress (The REDOXS[®] Study): rationale and study design for a randomized trial of glutamine and antioxidant supplementation in critically-ill patients. **Proceedings of the Nutrition Society**, v. 65, p. 250 - 263, 2006.

HORNSBY-LEWIS, L.; SHIKE, M.; BROWN, P.; KLANG, M.; PEARLSTONE, D.; BRENNAN, M. F. L-glutamine supplementation in home total parenteral nutrition patients: stability, safety, and effects on intestinal absorption. **Journal of Parenteral and Enteral Nutrition**, v. 18, n. 3, p. 268 - 273, 1994.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Censo Demográfico: 2000**. Rio de Janeiro: Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/censo/> Acesso em: 18 mai. 2005.

INTERNATIONAL PHYSICAL ACTIVITY QUESTIONNAIRE. **Guidelines for data processing and analysis of the International Physical Activity Questionnaire (IPAQ)** - short and long forms [revised 2002]. Disponível em:

<<http://www.ipaq.ki.se/downloads.htm>> Acesso em: 29 mar. 2006.

JIANG, Z. M.; CAO, J. D.; ZHU, X. G.; ZHAO, W. X.; YU, J. C.; MA, E. L.; WANG, X. R.; ZHU, M. W.; SHU, H.; LIU, Y. W. The impact of alanyl-glutamine on clinical safety, nitrogen balance, intestinal permeability, and clinical outcome in postoperative patients: a randomized, double-blind, controlled study of 120 patients. **Journal of Parenteral and Enteral Nutrition**, v. 23, n. 5, p. s62 - s66, 1999.

JONAS, C. R.; PUCKETT, A. B.; JONES, D. P.; GRIFFITH, D. P. SZESZYCKI, E. E.; BERGMAN, G. F.; FURR, C. E.; TYRE, C.; CARLSON, J. L; GALLOWAY, J. R. BLUMBERG, J. B.; ZIEGLER, T. R. Plasma antioxidant status after high-dose

chemotherapy: a randomized trial of parenteral nutrition in bone marrow transplantation patients, **The American Journal of Clinical Nutrition**, v.72, n. 1, p. 181 - 189, 2000.

JONES, D. P.; BROWN, L.A.; STERNBERG, P. Variability in glutathione-dependent detoxication in vivo and its relevance to detoxication of chemical mixtures. **Toxicology**, v. 105, n. 2/3, p. 267 - 274, 1995.

JONES, D. P.; CARLSON, J. L.; MODY Jr, V. C.; CAL, J.; LYNN, M. J.; STERNBERG Jr., P. Redox state of glutathione in human plasma. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 28, n. 4, p. 625 - 635, 2000.

JONES, D. P.; MODY Jr, V. C.; CARLSON, J. L.; LYNN, M. J.; STERNBERG Jr., P. Redox analysis of human plasma allows separation of pro-oxidant events of aging from decline in antioxidant defenses. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 33, n. 9, p. 1290 - 1300, 2002.

JONES, N. E.; HEYLAND, D. K. Phamaconutrition: a new emerging paradigm. **Current Opinion in Gastroenterology**, v. 24, p. 215 - 222, 2008.

JUNQUEIRA, V. B. C. Antioxidantes e envelhecimento. *In*: CASTRO, M. P. P. **Temas de medicina da longevidade**. São Paulo: Fundação Novartis, 2002. p. 31 - 69.

JUNQUEIRA, V. B. C.; RAMOS, L. R. Estresse oxidativo. *In*: RAMOS, L. R.; Toniolo Neto, J. (Org.). **Guias de Medicina Ambulatorial e Hospitalar – UNIFESP – EPM. Geriatria e Gerontologia**. São Paulo: Manole, 2005. p. 315 - 324.

KHOGALI, S. E. O.; PRINGLE, S. D.; WERYK, B. V.; RENNIE, M. J. Is glutamine beneficial in ischemic heart disease? **Nutrition**, v. 18, p. 123 - 126, 2002.

KIRLIN, W. G.; CAI, J. THOMPSON, S. A.; DIAZ, D. KAVANAGH, T. J.; JONES, D. P. Glutathione redox potential in response to differentiation and enzyme inducers. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 27, n. 11/12, p. 1208 - 1218, 1999.

KLASSEN, P.; MAZARIEGOS, M.; SOLOMONS, N. W.; FÜRST, P. The pharmacokinetic responses of humans to 20g of alanyl-glutamine dipeptide differ with the dosing protocol but not with gastric acidity or in patients with acute dengue fever. **The Journal of Nutrition**, v. 130, n. 2, p. 177 - 182, 2000.

KREBS, H. Special lecture: Glutamine metabolism in the animal body. *In*: Mora, J. & Palacios, R. **Glutamine metabolism, enzymology and regulation**. New York: Academic Press, 1980. p. 319 - 329.

KRETZSCHMAR, M.; MÜLLER, D. Aging, training and exercise. A review of effects on plasma glutathione and lipid peroxides, **Sports Medicine**, v. 15, n. 3, p. 196 - 209, 1993.

LEHNINGER, A. L.; NELSON, D. L.; COX, M. M. **Princípios de bioquímica**. 3a. ed. São Paulo: Sarvier, 2002.

LEMOS, V. M. Considerações sobre medicamentos e o rim no idoso. *In*: WERNECK DE CARVALHO, F. J. **Nefrologia em Geriatria**. Rio de Janeiro: Ed. Rubio, 2008. p. 41 - 53.

LESOURD, B.; MAZARI, L. Nutrition and immunity in the elderly. **Proceedings of the Nutrition Society**, v. 58, p. 685 - 695, 1999.

LIGHTHART, G. J.; CORBERAND, J. X.; FOURNIER, C.; GALANAUD, P.; HIJMANS, W.; KENNES, B.; MÜLLER-HERMELINK, H. K.; STEINMANN, G. G. Admisson criteria for immunogerontological studies in man: The SENIEUR Protocol. **Mechanims of Ageing and Development**, v. 28, p. 47 - 55, 1984.

LIMA, E. S.; ABDALLA, D. S. P. Peroxidação lipídica: mecanismos e avaliação em amostras biológicas. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 37, n. 3, p. 293 - 303, 2001.

LOCHS, H.; HÜBL, W. Metabolic basis for selecting glutamine-containing substrates for parenteral nutrition. **Journal of Parenteral and Enteral Nutrition**, v. 14, n. 4, p. 114S - 117S, 1990.

MASUR, J.; MONTEIRO, M. G.; Validation of the "CAGE" alcoholism screening test in a brazilian psychiatric inpatient hospital setting. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 16, p. 215 - 218, 1983.

MARKESBERRY, W. Oxidative stress hypothesis in Alzheimer's disease. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 23, n. 1, p. 134 - 147, 1997.

MASTERTON, W. L.; SLOWINSKI, E. J. **Química Geral Superior**. 4. ed. Rio de Janeiro: Interamericana, 1978. 681p.

MASUR, J.; MONTEIRO, M. G. Validation of the CAGE alcoholism screening test in Brazilian psychiatric inpatient hospital setting. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 16, p. 215 - 218, 1983.

MATILLA, B.; ORTIZ, J.; GONZÁLEZ, P.; GARCÍA-DÍEZ, F.; JORQUERA, F.; CULEBRAS, J. M.; GONZÁLEZ-GALLEGO, J.; TUÑÓN, M. J. Effects of parenteral

nutrition supplemented with glutamine or glutamine dipeptides on liver antioxidant and detoxication systems in rats. **Nutrition**, v. 16, p. 125 - 128, 2000.

MAZARI, L.; LESOURD, B. M. Nutritional influences on immune response in healthy aged persons. **Mechanims of Ageing and Development**, v. 104, n. 1, p. 25 - 40, 1998.

MEISTER, A.; ANDERSON, M. E. Glutathione, **Annual Review of Biochemistry**, v. 52, p. 711 - 760, 1983.

MILLER, O. **O laboratório e os métodos de imagem para o clínico**. São Paulo: Editora Atheneu, 2003. 559p.

MIQUEL, J. Nutrition and ageing. **Public Health Nutrition**, v. 4, n. 6a, p. 1385-1388, 2001.

MOTULSKY, H. **Intuitive biostatistics**. New York: Oxford University Press, 1995. 386 p.

NAJAS, M.; PEREIRA, F. A. I. Nutrição em Gerontologia . *In*: FREITAS, E. V.; PY, L.; CANÇADO, F. A. X. ; DOLL, J.; GORZONI, M. L. **Tratado de Geriatria e Gerontologia**. 2ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2006, cap. 124, p. 1180 - 1188.

NEWSHOLME, P.; LIMA, M. M. R.; PROCOPIO, J.; PITHON-CURI, T. C.; DOI, S. Q.; BAZOTTE, R. B.; CURI, R. Glutamine and glutamate as vital metabolites. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 36, p. 154 - 163, 2003.

NOVAES, M. R. C. G.; ITO, M. K.; ARRUDA, S. F.; RODRIGUES, P.; LISBOA, A. Q. Suplementação de micronutrientes na senescência: implicações nos mecanismos imunológicos. **Revista de Nutrição**, v. 18, n. 3, p. 367 - 376, 2005.

O'CONNOR, R. **Fundamentos de química**. São Paulo: Harper & Row do Brasil, 1977, 668p.

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

OLAGNERO, G.; BENDERSKY, S.; GENEVOIS, C.; GRANZELLA, L.; MONTONATI, M. Alimentos funcionales: conceptos, definiciones y marco legal global. **Diaeta**, v. 25, n. 121, p. 31 - 39, 2007.

OLAGNERO, G.; BENDERSKY, S.; GENEVOIS, C.; GRANZELLA, L.; MONTONATI, M. Alimentos funcionales: fibra, prebióticos, probióticos y simbióticos. **Diaeta**, v. 25, n. 121, p. 20 - 33, 2007.

OPARA E, C.; ROCKWAY, S. W. Antioxidants and micronutrients. **Disease-a-month**, v. 52, p. 151 - 163, 2006.

OPARA, E. C. Oxidative Stress. **Disease-a-month**, v. 52, p. 183 - 198, 2006.

PANCORBO SANDOVAL, A. E. Estresse oxidativo metabólico e doenças crônicas não-transmissíveis: uma proposta de estilo de vida saudável. *In: _____*. **Medicina do esporte: princípios e prática**. Porto Alegre: Artmed, 2005, p. 77 - 96.

PAOLONI-GIACOBINO, A.; GRIMBLE, R.; PICHARD, C. Genomic interactions with disease and nutrition. **Clinical Nutrition**, v. 22, n. 6, p. 507 - 514, 2003.

PAPALÉO NETTO, M. O estudo da velhice: histórico, definição do campo e termos básicos. *In: FREITAS, E. V.; PY, L.; CANÇADO F. A. X.; DOLL, J.; GORZONI, M. L. Tratado de Geriatria e Gerontologia*. 2ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2006, cap. 1, p.2 - 12.

PARAHYBA M. I.; SIMÕES, C. C. S. A prevalência de incapacidade funcional em idosos no Brasil. **Ciência e Saúde Coletiva**, v. 11, n. 4, p. 967 - 974, 2006.

PEREIRA, M. Variáveis relativas às pessoas. *In: _____*. **Epidemiologia: Teoria e Prática**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1995. cap. 9, p. 187 - 217.

PRYOR, W.; GODBER, S. S. Noninvasive measures of oxidative stress status in humans. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 10, p. 177 - 184, 1991.

RAMOS, L. R.; VERAS, R. P.; KALACHE, A. Envelhecimento populacional: uma realidade brasileira. **Revista de Saúde Pública**, v. 21, p. 211 - 224, 1987.

RAVEH, D.; KOPYT, M.; RUDENSKY, B.; SONNENBLICK, M.; YINNON, A. M. Risk factors for nephrotoxicity in elderly patients receiving once-daily aminoglycosides. **The Quartely Journal of Medicine**, v. 95, p. 291 - 297, 2002.

REIBNEGGER, G.; HUBBER, L. A.; JURGENS, G.; SCHRÖNITZER, D.; WERNER, E. R.; WATCHER, H; WICK, G.; TRAILL, K. N. Approach to define “normal aging” in man: immune function, serum lipids, lipoproteins and neopterin. **Mechanisms of Ageing and Development**, v. 46, p. 67 - 82, 1988.

ROTH, E.; OCHLER, R.; MANHART, N.; EXNER, R.; WESSNER, B.; STRESSER, E.; SPLITTLER, A. Regulative potential of glutamine – Relation to glutathione metabolism. **Nutrition**, v. 18, p. 217 - 221, 2002.

ROTH, E. Immune and cell modulation by amino acids. **Clinical Nutrition**, v. 26, p. 535 - 544, 2007.

ROTSTEIN, O. D. Oxidants and antioxidant therapy. **Critical Care Clinics**, v. 17, n. 1, p. 239 - 247, 2001.

SACKS, G. S. Glutamine supplementation in catabolic patients. **The Annals of Pharmacotherapy**, v. 33, p. 348 - 354, 1999.

SAMIEC, P. S., DREWS-BOTSCH, C.; FLAGG, E. W.; KURTZ, J. C.; STERNBERG Jr, P.; REED, R. L.; JONES, D. P. Glutathione in human plasma: decline in association with aging, age-related macular degeneration, and diabetes. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 24, n. 5, p. 699 - 704, 1998.

SCHEID, C.; HERMANN, K.; KREMER, G.; HOLSING, A.; HECK, G.; FUCHS, M.; WALDSCHMIDT, D.; HERMANN, H-J. Randomized, double-blind, controlled study of glycyl-glutamine-dipeptide in the parenteral nutrition of patients with acute leukemia undergoing intensive chemotherapy. **Nutrition**, v. 20, p. 249 - 254, 2004.

SHABERT, J. K.; WILMORE, D. W. Glutamine deficiency as a cause of human immunodeficiency virus wasting. **Medical Hypotheses**, v. 46, n. 252 - 256, 1996.

SIES, H. Glutathione and its role in cellular functions. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 27, n. 9/10, p. 916 - 921, 1999.

SILVA, F. G. The aging kidney: a review – Part I. **International Urology and Nephrology**, v. 37, p. 185 - 205, 2005.

SMITH, C. V.; JONES, D. P.; GUENTHNER, T. M.; LASH, L. H.; LAUTERBURG, B. H. Compartmentation of glutathione: implications for the study of toxicity and disease. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 140, p. 1 - 12, 1996.

TAPIERO, H.; MATHÉ, G.; COUVREUR, P.; TEW, K. D. Glutamine and glutamate. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 56, p. 446 - 457, 2002.

TAYLOR, C. G.; BAUMAN, P. F.; SIKORSKI, B.; BRAY, T. M. Elevation of lung glutathione by oral supplementation of L-2-oxothiazolidine-4-carboxylate protects against

oxygen toxicity in protein-energy malnourished rats. **FASEB Journal**, v. 6, n. 12, p. 3103 - 3107, 1992.

TIETZ, N.W. **Clinical guide on clinical laboratory tests**. 4nd ed. Washington DC: AACC Press; 1991.

TIETZE, F. Enzymic method for quantitative determination of nanogram amounts of total and oxidized glutathione: application to mammalian blood and other tissues. **Analytical Biochemistry**, v. 27, p. 502 - 522, 1969.

TIETZ, N. W.; RINKER, D.; SHAW, L. M. IFCC Methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes. Part 5: IFCC methods for alkaline phosphatase. **Journal of Clinical Chemistry and Clinical Biochemistry**, v. 21, p. 731 - 748, 1983.

TOLONEN, M.; HALME, M.; SARNA, S. Vitamin E and selenium supplementation in geriatrics patients. **Biological Trace Element Research**, v. 7, p. 161 - 168, 1985.

TOLONEN, M.; SARNA, S.; HALME, M. Antioxidant supplementation decreases TBA reactants in serum of elderly. **Biological Trace Element Research**, v. 7, p. 221 - 228, 1988.

TRINDER, P. Determination of glucose in blood using glucose oxidase with an alternative oxygen acceptor. **Annals of Clinical Biochemistry**, v. 6, p. 24 - 27, 1969.

VALENCIA, E.; MARIN, A.; HARDY, G. Glutathione - Nutritional and pharmacological viewpoints: Part I. **Nutrition**, v. 17, p. 428 - 429, 2001.

VALENCIA, E.; MARIN, A.; HARDY, G. Glutathione - Nutritional and pharmacological viewpoints: Part II. **Nutrition**, v. 17, p. 485 - 486, 2001.

VALENCIA, E.; MARIN, A.; HARDY, G. Glutathione - Nutritional and pharmacological viewpoints: Part III. **Nutrition**, v. 17, p. 696 - 697, 2001.

VALENCIA, E.; MARIN, A.; HARDY, G. Glutathione - Nutritional and pharmacological viewpoints: Part IV. **Nutrition**, v. 17, p. 783 - 784, 2001.

VALENCIA, E.; MARIN, A.; HARDY, G. Glutathione - Nutritional and pharmacological viewpoints: Part V. **Nutrition**, v. 17, p. 978, 2001.

VALENCIA, E.; MARIN, A.; HARDY, G. Glutathione - Nutritional and pharmacological viewpoints: Part VI. **Nutrition**, v. 18, p. 291 - 292, 2002.

VALENCIA, E.; MARIN, A.; HARDY, G. Impact of oral L-glutamine on glutathione, glutamine, and glutamate blood levels in volunteers. **Nutrition**, n. 18, p. 367 - 370, 2002.

VAN ANKEN, H. C.; SCHIPHORST, M. E. A kinetic determination of ammonia in plasma. **Clinica Chimica Acta**, v. 56, p. 151 - 157, 1974.

VESTAL, R. E. Aging and determinants of hepatic drug clearance. **Hepatology**, v. 9, n. 2, p. 331 - 334, 1989.

VIEGAS, C. A. A. (org). Diretrizes para cessação do tabagismo. **Jornal Brasileiro de Pneumologia**, v. 30, p. 1 - 75, 2004.

WERNECK DE CARVALHO, F. J. Nefroproteção e envelhecimento. *In*: _____. **Nefrologia em Geriatria**. Rio de Janeiro: Ed. Rubio, 2008. p. 29 - 39.

WESSNER, B.; STRASSER, E.-M. ; SPITTLER, A.; ROTH, E. Effect of single and combined supply of glutamine, glycine, N-acetylcysteine, and R, S- α -lipoic acid on glutathione content of myelomonocytic cells. **Clinical Nutrition**, v. 22, n. 6, p. 515 - 522, 2003.

WHITE, G. H. Recent advances in routine thyroid function testing. **Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences**, v. 24, p. 315 - 362, 1987.

WIEMAN, H. M. Avoiding common pitfalls of geriatric prescribing. **Geriatrics**, v. 41, n. 6, p. 81 - 89, 1986.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **The uses of epidemiology in the study of the elderly: report of a WHO scientific group on the epidemiology of aging**. Geneva; WHO; 1984, Technical Report Series n° 706.

WYNE, H. A.; COPE, L. H.; MUTCH, E.; RAWLINS, M. D.; WOODHOUSE, K. W.; JAMES, O. F. W. The effect of age upon liver volume and apparent liver blood flow in healthy man. **Hepatology**, v. 9, n. 2, p. 297 - 301, 1989.

YAGI, K. Simple assay for the level of total lipid peroxide in serum or plasma. *In*: ARMSTRONG, D. **Methods in Molecular Biology**. Totowa: Humana Press Inc 1998. v. 108, p. 101 - 106.

YAGI, M.; SAKAMOTO, K.; HASEBE, K.; HIROSHI, I.; ONISHI, I.; TANI, T.; HASHIMOTO, T.; SHIMIZU, K.; MIWA, K. Effect of a glutamine-enriched diet on small bowel allograft during immunosuppressive therapy. **Nutrition**, v. 13, n. 9, p. 778 - 782, 1997.

YAMAMOTO, G. R. I.; ZAGO, A. J.; ALHO, C. S.; MORIGUCHI, E. H. Aspectos básicos e clínicos do envelhecimento vascular: participação do estresse oxidativo e da disfunção endotelial na aterogênese. *In*: JECKEL NETO, E. A., CRUZ, I. B. M. **Aspectos biológicos e geriátricos do envelhecimento II**. Porto Alegre: EDIPUCRS, 2000, cap. 16, p. 371 - 403.

YAMAMOTO, A.; DIOGO, M. J. D. Os idosos e as instituições asilares do município de campinas. **Revista Latino-americana de Enfermagem**, v. 10, n. 5, p. 660 - 666, 2002.

YOSHIDA, S.; KAIBARA, A.; ISHIBASHI, N.; SHIROUZU, K. Glutamine supplementation in cancer patients. **Nutrition**, v. 17, p. 766 - 768, 2001.

YOSHIDA, S.; MATSUI, M.; SHIROUZU, Y.; FUJITA, H.; YAMANA, H.; SHIROUZU, K. Effects of glutamine supplements and radiochemotherapy on systemic immune and gut barrier function in patients with advanced esophageal cancer. **Annals of Surgery**, v. 227, n. 4, p. 485 - 491, 1998.

ZIEGLER, T. R.; BENFELL, K.; SMITH, R.J.; YOUNG, L. S.; BROWN, E.; FERRARI-BALIVIERA, E.; LOWE, D.K.; WILMORE, D. W. Safety and metabolic effects of L-glutamine administration in humans. **Journal of Parenteral and Enteral Nutrition**, v. 14, n. 4, p. 137s - 146s, 1990.

APÊNDICES

APÊNDICE A – Ficha de Avaliação Geriátrica Ampla

**Lar Torres de Melo**

SOCIEDADE FILANTRÓPICA DE UTILIDADE PÚBLICA FEDERAL, ESTADUAL E MUNICIPAL

Avaliação Geriátrica Ampla

Nome: _____**Número do prontuário:** _____**Número da avaliação:** _____**Responsável: Dra. Siulmara Cristina Galera****Geriatría****2007**

“Lar Torres de Melo”
Avaliação Geriátrica Ampla
Número do prontuário: _____
Número da avaliação: _____
Avaliação Médica
Identificação

Nome: _____ Apelido: _____
 Data Nascimento: ____/____/____ Naturalidade: _____ Profissão: _____
 Última residência: _____ Leito/Apto.: _____
 Informante: _____
 Avaliador: _____ Data da avaliação: _____

1. Informante: _____
 (1) O idoso
 (2) Enfermeira
 (3) Cuidador
 (4) Enfermeira e cuidador

Aspectos sócio-demográficos

2. Qual o sexo? _____
 (1) Masculino
 (2) Feminino

3. Qual sua idade? _____

3.1. Faixa etária: _____

- (1) 45 - 54 anos
 (2) 55 - 64 anos
 (3) 65 - 74 anos
 (4) 75 - 84 anos
 (5) 85 - 94 anos
 (6) 95 e mais anos
 (99) NS

4. A sua cor ou raça é: _____

- (1) Branca
 (2) Preta
 (3) Amarela
 (4) Parda
 (5) Indígena

5. Qual é o seu estado civil? _____

- (1) Casado(a) ou união consensual
 (2) Desquitado(a) ou separado judicialmente
 (3) Divorciado(a)
 (4) Viúvo(a)
 (5) Solteiro(a)
 (6) Separado (a)
 (99) NS

6. Sabe ler e escrever? _____

- (1) Sim
- (2) Não
- (99) NS

7. Quantos anos estudou? _____

- (1) Analfabeto
- (2) Sabe ler /escrever ou primário incompleto (< 4 anos)
- (3) Primário completo (>= 4 anos)
- (4) Ginásio ou 1º grau completo (>=8 anos)
- (5) 2º grau completo (científico, técnico ou equivalente)
- (6) Superior completo
- (99) NS

8. Qual a sua religião? _____

- (1) Católica
- (2) Evangélica
- (3) Espírita
- (4) Budista
- (5) Outros
- (99) NS

9. Possui alguma renda, qual? _____

- (1) Não
- (2) Sim - aposentadoria
- (3) Sim – pensão
- (4) Sim - mesada dos filhos
- (5) Sim - aluguel
- (6) Sim - trabalho
- (7) Sim – outras _____
- (99) NS

10. Se possui alguma renda, qual o valor mensal? (Recebe bruto) _____

- (1) Menos de $\frac{1}{4}$ de SM
- (2) De $\frac{1}{4}$ de SM a menos de $\frac{1}{2}$ SM
- (3) De $\frac{1}{2}$ SM a menos de 1 SM
- (4) De 1 SM a menos de 2 SM
- (5) 2 SM ou mais
- (88) Não se aplica
- (99) NS

11. O senhor(a) trabalha? _____

- (1) Sim
- (2) Não

12. Se trabalha, como é seu trabalho? _____

- (1) Empregado com carteira assinada
 - (2) Empregado sem carteira assinada
 - (3) Por conta própria
 - (4) Ajuda no próprio Lar (serviços domésticos, ajuda outros idosos, outros serviços)
 - (88) Não se aplica
 - (99) NS
- Qual é seu trabalho? _____

Observação Clínica

Anamnese

Queixa Principal

História da Doença Atual

Interrogatório Complementar

13. Sintomas gerais:

- 13.1. adinamia: (1) Sim (2) Não (99) NS _____
- 13.2. indisposição: (1) Sim (2) Não (99) NS _____
- 13.3. mal estar: (1) Sim (2) Não (99) NS _____
- 13.4. tonturas: (1) Sim (2) Não (99) NS _____
- 13.5. outros: (1) Sim (2) Não (99) NS _____

14. Olhos:

- 14.1. diminuição da acuidade: (1) OD (2) OE (3) ambos (9) Não (99) NS _____
- 14.2. uso de óculos (1) Sim (2) Não (99) NS _____
- 14.3. cegueira: (1) olho direito (2) olho esquerdo (3) ambos (9) Não (99) NS _____
- 14.4. catarata: (1) olho direito (2) olho esquerdo (3) ambos (9) Não (99) NS _____
- 14.5. outros: (1) Sim (2) Não (99) NS _____

15. Ouvidos:

- 15.1. diminuição da acuidade: (1) ouvido direito (2) ouvido esquerdo (3) ambos (9) Não (99) NS _____
- 15.2. uso de aparelhos: (1) Sim (2) Não (99) NS _____
- 15.3. zumbido: (1) Sim (2) Não (99) NS _____
- 15.4. outros: (1) Sim (2) Não (99) () NS _____

16. Nariz:

16.1. coriza: (1) Sim (2) Não (99) NS _____

16.2. congestão: (1) Sim (2) Não (99) NS _____

16.3. espirros freqüentes: (1) Sim (2) Não (99) NS _____

16.4. outros: (1) Sim (2) Não (99) NS _____

17. Boca:

17.1. ausência de dentes na arcada: (1) superior (2) inferior (3)ambas (4) Não (99) NS _____

17.2. problemas dentários na arcada: (1) superior (2) inferior (3)ambas (4) Não (99) NS _____

17.3. próteses na arcada: (1) superior (2) inferior (3)ambas (4) Não (99) NS _____

17.4. outros: (1) Sim (2) Não (99) NS _____

18. Garganta:

18.1. dor: (1) Sim (2) Não (99) NS _____

18.2. rouquidão: (1) Sim (2) Não (99) NS _____

18.3. halitose: (1) Sim (2) Não (99) NS _____

18.4. outros: (1) Sim (2) Não (99) NS _____

19. Pescoço:

19.1. dor ao movimento: (1) Sim (2) Não (99) NS _____

19.2. dor a palpação: (1) Sim (2) Não (99) NS _____

19.3. outros: (1) Sim (2) Não (99) NS _____

20. Cardio-respiratório:

20.1. hipertensão arterial sistêmica: (1) Sim (2) Não (99) NS _____

20.2. insuficiência coronária: (1) Sim (2) Não (99) NS _____

20.3. insuficiência cardíaca: (1) Sim (2) Não (99) NS _____

20.4. dispnéia de esforço: (1) Sim (2) Não (99) NS _____

20.5. dispnéia paroxística noturna: (1) Sim (2) Não (99) NS _____

20.6. ortopnéia: (1) Sim (2) Não (99) NS _____

- 20.7. dor precordial: (1) Sim (2) Não (99) NS _____
- 20.8. palpitações: (1) Sim (2) Não (99) NS _____
- 20.9. edema: (1) Sim (2) Não (99) NS _____
- 20.10. tosse: (1) Sim (2) Não (99) NS _____
- 20.11. expectoração: (1) Sim (2) Não (99) NS _____
- 20.12. sibilos: (1) Sim (2) Não (99) NS _____
- 20.13. outros: (1) Sim (2) Não (99) NS _____
-
-
-

21. Gastro-intestinal:

- 21.1. náuseas: (1) Sim (2) Não (99) NS _____
- 21.2. vômitos: (1) Sim (2) Não (99) NS _____
- 21.3. disfagia: (1) Sim (2) Não (99) NS _____
- 21.4. refluxo: (1) Sim (2) Não (99) NS _____
- 21.5. eructações: (1) Sim (2) Não (99) NS _____
- 21.6. pirose: (1) Sim (2) Não (99) NS _____
- 21.7. sensação de plenitude pós-prandial: (1) Sim (2) Não (99) NS _____
- 21.8. hematoquesia: (1) Sim (2) Não (99) NS _____
- 21.9. hábito intestinal regular: (1) Sim (2) Não (99) NS _____
- 21.10. alteração do hábito intestinal : (1) Sim (2) Não (99) NS _____
- 21.11. diarreia: (1) Sim (2) Não (99) NS _____
- 21.12. obstipação: (1) Sim (2) Não (99) NS _____
- 21.13. dor abdominal: (1) Sim (2) Não (99) NS _____
- 21.14. flatulência: (1) Sim (2) Não (99) NS _____
- 21.15. intolerância alimentar: (1) Sim (2) Não (99) NS _____
- 21.16. outros: (1) Sim (2) Não (99) NS _____

Data do último tratamento para vermes _____ / _____ qual medicação? _____

22. Urinário:

- 22.1. disúria: (1) Sim (2) Não (99) NS _____
- 22.2. urgência: (1) Sim (2) Não (99) NS _____

- 22.3. alteração da frequência: (1) Sim (2) Não (99) NS _____
- 22.4. poliúria: (1) Sim (2) Não (99) NS _____
- 22.5. nictúria: (1) Sim (2) Não (99) NS _____
- 22.6. polaciúria: (1) Sim (2) Não (99) NS _____
- 22.7. hematúria: (1) Sim (2) Não (99) NS _____
- 22.8. dificuldade para começar a urinar: (1) Sim (2) Não (99) NS _____
- 22.9. incontinência: (1) Sim (2) Não (99) NS _____
- 22.10. fluxo urinário diminuído: (1) Sim (2) Não (99) NS _____
- 22.11. gotejamento: (1) Sim (2) Não (99) NS _____
- 22.13. infecções urinárias: (1) Sim (2) Não (99) NS _____
- 22.14. outros: (1) Sim (2) Não (99) NS _____
-
-
-

23. Genitália masculina:

- 23.1. hérnias: (1) Sim (2) Não (99) NS (88) Não se aplica _____
- 23.2. problemas de próstata: (1) Sim (2) Não (99) NS (88) Não se aplica _____
- 23.3. atividade sexual: (1) Sim (2) Não (99) NS (88) Não se aplica _____
- 23.4. diminuição da libido: (1) Sim (2) Não (99) NS (88) Não se aplica _____
- 23.5. impotência: (1) Sim (2) Não (99) NS (88) Não se aplica _____
- 23.6. uso de medicamentos para disfunção erétil: (1) Sim (2) Não (99) NS (88) Não se aplica
Qual? _____
- 23.7. usa preservativo: (1) Sim (2) Não (99) NS (88) Não se aplica _____
- 23.8. outros: (1) Sim (2) Não (99) NS (88) Não se aplica _____
-
-
-

24. Ginecológico:

- 24.1. menopausa: (1) Sim (2) Não (99) NS (88) Não se aplica _____
- 24.2. Idade _____ (99) NS (88) Não se aplica _____
- 24.3. sangramento pós menopausa: (1) Sim (2) Não (99) NS (88) Não se aplica _____
- 24.4. atividade sexual: (1) Sim (2) Não (99) NS (88) Não se aplica _____
- 24.5. dispareunia: (1) Sim (2) Não (99) NS (88) Não se aplica _____
- 24.6. secreção vaginal: (1) Sim (2) Não (99) N (88) Não se aplica _____

características: _____

24.7. diminuição da libido: (1) Sim (2) Não (99) NS (88) Não se aplica _____

24.8. nunca fez exame ginecológico: (1) Sim (2) Não (99) NS (88) Não se aplica _____

24.9. ano do último exame ginecológico: _____ (99) NS (88) Não se aplica _____

24.10. problema na mama: (1) Sim (2) Não (99) NS (88) Não se aplica _____

24.11. outros: (1) Sim (2) Não (99) NS (88) Não se aplica _____

25. Músculo-esquelético:

25.1. dor muscular: (1) Sim (2) Não (99) NS _____

25.2. câibras: (1) Sim (2) Não (99) NS _____

25.3. fraqueza muscular: (1) Sim (2) Não (99) NS _____

25.4. atrofia: (1) Sim (2) Não (99) NS _____

25.5. dor óssea: (1) Sim (2) Não (99) NS _____

25.6. dor articular: (1) Sim (2) Não (99) NS _____

25.7. edema articular: (1) Sim (2) Não (99) NS _____

25.8. rigidez articular: (1) Sim (2) Não (99) NS _____

25.9. limitação de movimento articular: (1) Sim (2) Não (99) NS _____

25.10. história de fratura : (1) Sim (2) Não (99) NS _____

25.11. deformidade: (1) Sim (2) Não (99) NS _____

25.12. dor na coluna: (1) Sim (2) Não (99) NS _____

25.13. dificuldade de deambular: (1) Sim (2) Não (99) NS _____

25.14. outros: (1) Sim (2) Não (99) NS _____

26. Neurológico-psiquiátrico:

26.1. desmaios: (1) Sim (2) Não (99) NS _____

26.2. ataques: (1) Sim (2) Não (99) NS _____

26.3. vertigens: (1) Sim (2) Não (99) NS _____

26.4. tonturas: (1) Sim (2) Não (99) NS _____

26.5. tremor: (1) Sim (2) Não (99) NS _____

26.6. parestesias: (1) Sim (2) Não (99) NS _____

- 26.7. parestias: (1) Sim (2) Não (99) NS _____
- 26.8. paralisias: (1) Sim (2) Não (99) NS _____
- 26.9. disartrias: (1) Sim (2) Não (99) NS _____
- 26.10. incoordenação : (1) Sim (2) Não (99) NS _____
- 26.11. alterações da marcha: (1) Sim (2) Não (99) NS _____
- 26.12. nervosismo: (1) Sim (2) Não (99) NS _____
- 26.13. humor deprimido: (1) Sim (2) Não (99) NS _____
- 26.14. perda do interesse: (1) Sim (2) Não (99) NS _____
- 26.15. retardo psicomotor: (1) Sim (2) Não (99) NS _____
- 26.16. agitação psicomotora: (1) Sim (2) Não (99) NS _____
- 26.17. sentimento de inutilidade ou culpa: (1) Sim (2) Não (99) NS _____
- 26.18. pensamentos de morte ou ideação suicida: (1) Sim (2) Não (99) NS _____
- 26.19. alucinações: (1) Sim (2) Não (99) NS _____
- 26.20. insônia: (1) Sim (2) Não (99) NS _____
- 26.21. instabilidade emocional: (1) Sim (2) Não (99) NS _____
- 26.22. alteração da memória: (1) Sim (2) Não (99) NS _____
- 26.23. outros: (1) Sim (2) Não (99) NS _____

27. Metabólico e Endócrino:

- 27.1. diabetes mellitus: (1) Sim (2) Não (99) NS _____
- 27.2. dislipidemia: (1) Sim (2) Não (99) NS _____
- 27.3. bom apetite: (1) Sim (2) Não (99) NS _____
- 27.4. apetite ruim: (1) Sim (2) Não (99) NS _____
- 27.5. perda de peso: (1) Sim (2) Não (99) NS _____
- 27.6. ganho de peso: (1) Sim (2) Não (99) NS _____
- 27.7. quantos kilos? _____ (88) Não se aplica (99) NS _____
- 27.8. em quanto tempo? _____ (88) Não se aplica (99) NS _____
- 27.9. problemas da tireóide: (1) Sim (2) Não (99) NS _____
- 27.10. qual?: _____

- (1) Hipotireoidismo
 (2) Hipertireoidismo
 (3) Nódulo

(4) Neoplasia
 (88) Não se aplica
 (99)NS

28. Hematológico:

28.1. anemia: (1) Sim (2) Não (99) NS _____

28.2. sangramento fácil: (1) Sim (2) Não (99) NS _____

29. Alergia e imunização:

29.1. alergia a medicamentos: (1) Sim (2) Não (99) NS _____

quais? _____

29.2. alergia a alimentos: (1) Sim (2) Não (99) NS _____

quais? _____

29.3. urticária: (1) Sim (2) Não (99) NS _____

29.4. eczemas: (1) Sim (2) Não (99) NS _____

29.5. alergia respiratória: (1) Sim (2) Não (99) NS _____

29.6. rinite alérgica: (1) Sim (2) Não (99) NS _____

29.7. vacinas: (1) Sim (2) Não (99) NS _____

29.8. quais vacinas?

29.8.1. anti-gripal: (1) Sim (2) Não (99) NS _____

29.8.2. anti-tetânica: (1) Sim (2) Não (99) NS _____

29.8.3. anti-pneumônica: (1) Sim (2) Não (99) NS _____

29.8.4. outras: (1) Sim (2) Não (99) NS Qual(is)? _____

30. Pele:

30.1. ressecada: (1) Sim (2) Não (99) NS _____

30.2. manchas: (1) Sim (2) Não (99) NS _____

30.3. lesões: (1) Sim (2) Não (99) NS _____

30.4. micoses: (1) Sim (2) Não (99) NS _____

30.5. prurido: (1) Sim (2) Não (99) NS _____

Antecedentes

31. Pessoais

31.1. Fisiológicos:

31.1.1. Tempo de *..... (em anos) _____
 *Casado(a) ou união consensual
 Desquitado(a) ou separado judicialmente
 Divorciado(a)
 Viúvo(a)
 Solteiro(a)
 Separado
 (99) NS

31.1.2. Número de filhos: _____ (88) não se aplica (99) NS _____
 Gesta: _____ Para: _____ Abortos: _____ Natimortos _____ Prematuros _____

31.2. Patológicos:

31.2.1 Cirurgias prévias:

31.2.1.1. facectomia: (1) Sim (2) Não (99) NS _____

31.2.1.2. herniorrafia: (1) Sim (2) Não (99) NS _____

31.2.1.3. histerectomia: (1) Sim (2) Não (99) NS _____

31.2.1.4. cesariana: (1) Sim (2) Não (99) NS _____

31.2.1.5. perineoplastia: (1) Sim (2) Não (99) NS _____

31.2.1.6. mastectomia: (1) Sim (2) Não (99) NS _____

31.2.1.7. colecistectomia: (1) Sim (2) Não (99) NS _____

31.2.1.8. apendicectomia: (1) Sim (2) Não (99) NS _____

31.2.1.9. artroplastia do quadril: (1) Sim (2) Não (99) NS _____

31.2.1.10. amputação de membro ou parte: (1) Sim (2) Não (99) NS _____

31.2.1.11. prostatectomia: (1) Sim (2) Não (99) NS _____

31.2.1.12. outras: (1) Sim (2) Não (99) NS _____

31.2.2. Doenças anteriores:

31.2.2.1. catarata: (1) Sim (2) Não (99) NS _____

31.2.2.2. doença sexualmente transmissível: (1) Sim (2) Não (99) NS _____

31.2.2.3. tuberculose: (1) Sim (2) Não (99) NS _____

31.2.2.4. hanseníase: (1) Sim (2) Não (99) NS _____

31.2.2.5. doenças psiquiátricas: (1) Sim (2) Não (99) NS _____

31.2.2.6. acidente vascular cerebral: (1) Sim (2) Não (99) NS _____

31.2.2.7. doença arterial coronária: (1) Sim (2) Não (99) NS _____

31.2.2.8. alcoolismo: (1) Sim (2) Não (99) NS _____

31.2.2.9. úlcera no membro inferior: (1) Sim (2) Não (99) NS _____

31.2.2.10. outras: (1) Sim (2) Não (99) NS Qual(is)? _____

31.2.3. Internamentos:

31.2.3.1. devido às cirurgias: (1) Sim (2) Não (99) NS _____

31.2.3.1. devido às doenças anteriores: (1) Sim (2) Não (99) NS _____

31.2.4. Acidentes:

31.2.4.1. acidente automobilístico: (1) Sim (2) Não (99) NS _____

31.2.4.1. atropelamento: (1) Sim (2) Não (99) NS _____

31.2.4.1. acidente de trabalho: (1) Sim (2) Não (99) NS _____

31.2.4.1. ferimento de arma branca: (1) Sim (2) Não (99) NS _____

31.2.4.1. quedas: (1) Sim (2) Não (99) NS _____

31.2.4.1. número de quedas nos últimos 6 meses: _____ (88) Não se aplica (99) _____

32. Familiares:

32.1. Pai: (1) vivo (2) falecido (99) NS _____

Causa: _____

32.2. Mãe: (1) viva (2) falecida (99) NS _____

Causa: _____

32.3. Irmãos: _____ (99) NS _____

32.3.1. vivos: _____ (99) NS _____

32.3.2. mortos: _____ (99) NS _____

Doenças: _____

32.4 Ocorrência na família de:

32.4.1. diabetes mellitus: (1) Sim (2) Não (99) NS _____

32.4.2. tuberculose: (1) Sim (2) Não (99) NS _____

32.4.3. cardiopatias: (1) Sim (2) Não (99) NS _____

32.4.4. hipertensão arterial: (1) Sim (2) Não (99) NS _____

32.4.5. câncer: (1) Sim (2) Não (99) NS _____

32.4.6. doenças mentais: (1) Sim (2) Não (99) NS _____

32.4.7. demência: (1) Sim (2) Não (99) NS _____

32.4.8. outras: (1) Sim (2) Não (99) NS _____

33. Hábitos

33.1. Fumante: _____

- (1) Sim
- (2) Não
- (99) NS

33.1.1. Tipo: _____

- (1) cigarro de papel (industrial)
- (2) cigarro de papel /palha (não industrial)
- (3) charuto
- (4) cachimbo
- (5) outros
- (88) não se aplica

33.1.1.1. Quantidade: _____ cigarros/dia _____

33.1.2. Ex- fumante: _____

- (1) Sim
- (2) Não
- (88) Não se aplica
- (99) NS

33.1.3. Tempo que parou de fumar: _____ (em anos): _____

33.2. Bebida alcoólica: _____

- (1) Sim
- (2) Não
- (99) NS

33.2.1. Tipo: _____

- (1) cachaça
- (2) cerveja
- (3) whisky
- (4) outros
- (88) não se aplica
- (99) NS

33.2.2. Quantidade: _____

- (1) uma dose
- (2) duas doses
- (3) 3 doses ou mais
- (88) não se aplica
- (99) NS

33.2.3. Freqüência: _____

- (1) uma vez/ semana
- (2) duas vezes/ semana
- (3) três vezes / semana
- (4) quatro vezes/ semana
- (5) cinco vezes /semana
- (6) seis vezes /semana
- (7) diariamente
- (8) ocasionalmente (< que uma vez/semana)
- (88) Não se aplica
- (99) NS

33.3. Drogas ilícitas: _____

- (1) Sim
- (2) Não
- (3) NS

Qual? _____

33.4. Atividade física: _____

- (1) Sim: _____ (especifique)
- (2) Não
- (3) NS

33.4.1. Frequência: _____

- (1) todos os dias
- (2) mais de duas vezes por semana
- (3) uma a duas vezes por semana
- (4) menos de uma vez por semana
- (5) NS
- (88) não se aplica

Medicamentos (tipo, dose e quantidade)

34. Grupos de medicamentos:

34.0.1. anti-hipertensivo: (1) Sim (2) Não (99) NS _____

34.0.2. anti-agregante plaquetário: (1) Sim (2) Não (99) NS _____

34.0.3. antipsicótico: (1) Sim (2) Não (99) NS _____

34.0.4. antidepressivo: (1) Sim (2) Não (99) NS _____

34.0.5. antidiabético oral: (1) Sim (2) Não (99) NS _____

34.0.6. anti-histamínico/ anticolinérgico: (1) Sim (2) Não (99) NS _____

34.0.7. anti-ulceroso: (1) Sim (2) Não (99) NS _____

34.0.9. ansiolítico: (1) Sim (2) Não (99) NS _____

34.0.10. antiinflamatório não hormonal: (1) Sim (2) Não (99) NS _____

34.0.11. antibiótico: (1) Sim (2) Não (99) NS _____

34.0.12. hipolipemiante: (1) Sim (2) Não (99) NS _____

34.0.13. anti-convulsivante: (1) Sim (2) Não (99) NS _____

34.0.14. anti-parkinsoniano: (1) Sim (2) Não (99) NS _____

34.0.15. vitaminas: (1) Sim (2) Não (99) NS _____

34.0.16. fitoterápico: (1) Sim (2) Não (99) NS _____

34.0.17. outros: (1) Sim (2) Não (99) NS _____

34.1. Número de medicamentos: _____

(1) um

(2) dois

(3) três

(4) quatro

(5) cinco

(6) mais de cinco

(88) não se aplica

(99) NS

35. Exame Físico

35.1. Pressão arterial (deitado): _____ Pulso: _____ Temperatura: _____ _____

35.2. Pressão arterial (sentado): _____ Freqüência respiratória: _____ _____

Peso: _____ Altura: _____ Índice de Massa Corporal: _____

Circunferência abdominal: _____ Índice cintura quadril: _____

(88) Não se aplica

Avaliação geral

35.3. Aspecto geral: (1) bom (2) regular (3) comprometido _____

35.4. Acamado: (1) Sim (2) Não _____

35.5. Cadeira de rodas: (1) Sim (2) Não _____

35.6. Alteração da marcha: (1) Sim (2) Não Qual? _____

35.7. Uso de bengalas: (1) Sim (2) Não _____

35.8. Hidratado: (1) Sim (2) Não _____

35.9. Desnutrido: (1) Sim (2) Não _____

35.10. Orientado: (1) Sim (2) Não _____

35.11. Cooperativo: (1) Sim (2) Não _____

35.12. Palidez: (1) Sim (2) Não _____

35.13. Fácies: (1) atípica (2) _____ _____

Pele: _____

Conjuntivas: () normocoradas () hipocoradas ____/4+

Escleras: () icterícia ____4+ () hemorragia

Córnea: () arco senil

Pupilas: () isocóricas () anisocóricas

35.14. Catarata: (1) olho direito (2) olho esquerdo (3) ambos (4) Não _____

Otoscopia: _____

35.15. Rolha de cerúmen: (1) ouvido direito (2) ouvido esquerdo (3) ambos (4) Não _____

Boca: _____

35.16. Halitose: (1) Sim (2) Não _____

35.17. Língua: _____

- (1) normal
- (2) saburrosa

35.18. Ausência de dentes: _____

- (1) ausência na arcada superior
- (2) ausência na arcada inferior
- (3) ausência em ambas
- (4) Não
- (88) não se aplica

35.19. Conservação dos dentes: _____

- (1) bom estado de conservação
- (2) regular estado de conservação
- (3) mau estado de conservação
- (88) não se aplica

35.20. Prótese odontológica: _____

- (1) prótese superior
- (2) prótese inferior
- (3) ambas
- (4) Não
- (88) não se aplica

Cardio-pulmonar: _____

Abdômen: _____

Extremidades: _____

35.21. Pulso pedioso: (1) direito (2) esquerdo (3) ambos (4) ausência _____

35.22. Pulso tibial posterior: (1) direito (2) esquerdo (3) ambos (4) ausência _____

35.23. Varizes: (1) membro inferior direito (2) membro inferior esquerdo (3) ambos (4) ausência _____

Lista de Problemas:

Conduta: _____

36. Avaliação Funcional

36.1. Avaliação das Atividades Básicas de Vida Diária – Katz foi realizada? _____

- (1) Sim
(2) Não

Atividades Básicas de Vida Diária – Katz

Instruções

Para cada área de funcionamento listada abaixo, assinale a descrição que se aplica (a palavra “ajuda” significa supervisão, orientação ou auxílio pessoal).

I – independente

D – dependente

36.1.1. Tomar banho (leito, banheira ou chuveiro). _____

- (1) não recebe ajuda (entra e sai da banheira sozinho, se este for o modo habitual de tomar banho). (I)
(2) recebe ajuda para lavar apenas uma parte do corpo (como, por exemplo, as costas ou uma perna)(I)
(3) recebe ajuda para lavar mais de uma parte do corpo, ou não toma banho sozinho.(D)

36.1.2. Vestir-se _____

Pega roupas nos armários e gavetas, inclusive peças íntimas e manuseia fechos (inclusive os de órteses e próteses, quando forem utilizadas).

- (1) pega as roupas e veste-se completamente, sem ajuda. (I)
(2) pega as roupas e veste-se sem ajuda, exceto para amarrar os sapatos. (I)
(3) recebe ajuda para pegar as roupas ou vestir-se, ou permanece parcial ou completamente sem roupa (D)

36.1.3. Uso do vaso sanitário: _____

Ida ao banheiro ou local equivalente para evacuar e urinar; higiene íntima e arrumação das roupas.

- (1) vai ao banheiro ou local equivalente, se limpa e ajeita as roupas sem ajuda (pode usar objetos para apoio como bengala, andador ou cadeira de rodas e pode usar comadre ou urinol à noite, esvaziando-o de manhã). (I)
(2) recebe ajuda para ir ao banheiro ou local equivalente, ou para limpar-se, ou para ajeitar as roupas após evacuação ou micção, ou para usar a comadre ou urinol à noite. (D)
(3) não vai ao banheiro ou equivalente para eliminações fisiológicas. (D)

36.1.4. Transferência _____

- (1) deita-se e sai da cama, senta-se e levanta-se da cadeira sem ajuda (pode estar usando objeto para apoio, como bengala ou andador) (I)
(2) deita-se e sai da cama e/ou senta-se e levanta-se da cadeira com ajuda. (D)
(3) não sai da cama. (D)

36.1.5. Continência _____

- (1) controla inteiramente a micção e a evacuação. (I)
(2) tem “acidentes” ocasionais. (D)
(3) necessita de ajuda para manter o controle da micção e evacuação; usa catéter ou é incontinente(D)

36.1.6. Alimentação _____

- (1) alimenta-se sem ajuda. (I)
(2) alimenta-se sozinho, mas recebe ajuda para cortar carne ou passar manteiga no pão. (I)
(3) recebe ajuda para alimentar-se, ou é alimentado parcialmente ou completamente pelo uso de catéteres ou fluidos intravenosos. (D)

Resultado da avaliação: _____

Observações: _____

37. Em relação as AVDs segundo a escala da Katz o indivíduo é considerado: _____

- (0) Independente em todas as seis funções
(1) Independente em cinco funções e dependente em uma função

- (2) Independente em quatro funções e dependente em duas funções
 (3) Independente em três funções e dependente em três funções
 (4) Independente em duas funções e dependente em quatro funções
 (5) Independente em uma função e dependente em cinco funções
 (6) Dependente em todas as seis funções.

]

38. Avaliação das Atividades Funcionais AIVDs – Pfeffer, foi realizada? _____

- (1) Sim
 (2) Não

Atividades Funcionais AIVDs – Pfeffer

Instruções

Mostre ao informante as opções e leia as perguntas. Anote a pontuação que se segue:

Opções	Pontuação
Sim é capaz.....	0
Nunca o fez, mas poderia fazê-lo agora.....	0
Com alguma dificuldade, mas pode fazê-lo.....	1
Nunca o fez e teria dificuldade agora.....	1
Necessita de ajuda.....	2
Não é capaz.....	3

38.1. Ele(a) é capaz de manusear seu próprio dinheiro? _____

38.2. Ele(a) é capaz de comprar coisas para sua casa sozinho (por exemplo, comida e roupa)? _____

38.3. Ele(a) é capaz de esquentar a água para o café e apagar o fogo? _____

38.4. Ele(a) é capaz de preparar uma refeição ? _____

38.5. Ele(a) é capaz de manter-se em dia com as atualidades, com os acontecimentos da comunidade ou da vizinhança? _____

38.6. Ele(a) é capaz de prestar atenção, entender e discutir um programa de rádio ou televisão, um jornal ou uma revista? _____

38.7. Ele(a) é capaz de lembrar-se de compromissos, acontecimentos familiares, feriados? _____

38.8. Ele(a) é capaz de manusear sua próprios medicamentos? _____

38.9. Ele(a) é capaz de passear pela vizinhança e encontrar o caminho de volta para casa? _____

38.10. Ele(a) pode ser deixado(a) casa sozinho(a) forma segura? _____

38.11. Ele (a) é capaz de cumprimentar seus amigos de forma adequada (apropriadamente)? _____

Interpretação: se a soma de pontos maior ou igual a 6 sugere déficit cognitivo.

Resultado da avaliação: _____ pontos

Observações: _____

38.12. A pontuação na Escala de Pfeffer é: _____

39. Em relação as AIVDs segundo a Escala de Pfeffer o indivíduo é considerado: _____

- (1) Normal
 (2) Comprometido

40. Avaliação cognitiva foi realizada? _____

- (1) Sim (2) Não

40.1. Mini-exame do estado mental foi realizado? _____

(1) Sim (2) Não (88) Não se aplica

Mini exame do estado mental

	PONTOS	ESCORES				
DATA						
ORIENTAÇÃO						
1- Responder qual:						
Dia da semana	01					
Dia do mês	01					
Mês	01					
Ano	01					
Hora aproximada	01					
2- Localização:						
Local específico (consultório, setor)	01					
Instituição (edifício, clínica etc)	01					
Bairro ou rua próxima	01					
Cidade	01					
Estado	01					
REGISTRO:						
3- Nomear três objetos. Um segundo para cada nome. Perguntar imediatamente após terminar. Um ponto para cada acerto (Obs: Se algum erro ensinar até aprender ou até 6x).	03					
ATENÇÃO E CÁLCULO:						
4- Série dos sete. Subtrair de 100 sete até cinco respostas (alternativa: MUNDO - soletrar de trás para diante).	05					
MEMÓRIA RECENTE:						
5- Repetir os três nomes da questão 3 (um ponto para cada acerto)	03					
LINGUAGEM:						
6- Mostre o relógio e caneta-nomear.	02					
7- Repetir: "nem aqui, nem ali, nem lá".	01					
8- Comando verbal de três estágios: "Pegue esta folha com a mão direita. dobre no meio. Ponha no chão".	03					
9- Deve ler e obedecer a seguinte ordem: "Feche os olhos".	01					
10- Escrever uma frase completa.	01					
11- Reproduzir o desenho.	01					
TOTAL	30					

40.2. Pontuação do mini-exame do estado mental: _____ pontos. (88) Não se aplica _____

40.3. Teste de Fluência Verbal foi realizado? _____

(1) Sim (2) Não (88) Não se aplica

Fluência verbal

Instruções

Diga: "Você deve dizer todos os nomes de animais de que se lembrar, no menor tempo possível. Qualquer animal vale: insetos, pássaros, peixes e animais de quatro patas. Quantos mais o senhor (a) falar, melhor. Pode começar."

Anote o número de animais lembrados no período de 1 minuto.

Normal: 8 anos ou mais de escolaridade: 13 animais. Menos que 8 anos de escolaridade: 9 animais.

40.4. Pontuação na Fluência verbal: _____ pontos. (88) Não se aplica _____

40.5. Teste do desenho do relógio foi realizado? _____

(1) Sim (2) Não (88) não se aplica

Teste do desenho do relógio

Instruções

Dê-lhe uma folha de papel em branco e diga-lhe: "Desenhe um relógio com todos os números. Coloque os ponteiros marcando 11:10 min."(guarde o desenho com a ficha).

Avaliação 10-6: relógio e número estão corretos

10-hora certa

09-leve distúrbio nos ponteiros(por exemplo: ponteiro das horas sobre o 2)

08-distúrbios mais intensos nos ponteiros(por exemplo: anotando 2h20min)

07-ponteiros completamente errados

06-uso inapropriado(por exemplo: uso de código digital ou de círculos envolvendo números)

Avaliação 5-1: desenhos do relógio e dos números incorretos

05-números em ordem inversa ou concentrados em alguma parte do relógio.

04-números faltando ou situados fora dos limites do relógio

03-números e relógio não mais conectados. Ausência de ponteiros

02-alguma evidência de ter entendido as instruções, mas com vaga semelhança com um relógio

01-não tentou ou não conseguiu representar um relógio

Normal: 10 pontos

40.6. A pontuação do teste do desenho do relógio é: _____ pontos. (88) não se aplica _____

40.7. O indivíduo possui déficit cognitivo de acordo com a avaliação cognitiva realizada? _____

(1) Sim

(2) Não

(88) Não se aplica

(99) NS

41. Avaliação nutricional I foi realizada? _____

(1) Sim

(2) Não

Avaliação Nutricional I

DATA			
41.1.	Altura (cm)		
41.2.	Altura do joelho (cm)		
41.3.	Altura estimada (cm)		
41.4.	Perímetro Pulso (cm)		

41.5.	Peso ideal (Kg)		
41.6.	Peso atual (Kg)		
41.7.	Peso estimado (Kg)		
41.8.	% mudança de peso		
41.9.	Índice de Massa Corpórea (Kg/m ²)		
41.10.	Circunferência abdominal (cm)		
41.11.	Circunferência da cintura (cm)		
41.12.	Circunferência do quadril (cm)		
41.13.	Relação cintura-quadril (RCQ)		
41.14.	Circunferência da panturrilha (cm)		
41.15.	Circunferência braquial (cm)		
41.16.	Circunferência muscular braço (cm)		
41.17.	Dobra cutânea tricipital (mm)		
41.18.	Dobra cutânea subescapular (mm)		

42. Avaliação Nutricional II foi realizada? _____

(1) Sim

(2) Não

Avaliação Nutricional II

DATA			
42.1	Proteínas Totais (g/dL)		
42.2.	Albumina (g/dL)		
42.3.	Transferrina (g/dL)		
42.4.	%Linfócitos		
42.5.	Leucócitos (mm ³)		
42.6.	CTL (mm ³)		
42.7.	Hematócrito (mg/dL)		
42.8.	Hemoglobina (mg/dL)		
42.9.	Uréia (mg/dL)		
42.10.	Creatinina (mg/dL)		
42.11.	Glicemia (mg/dL)		

43. Em relação ao seu estado nutricional o indivíduo é considerado: _____

(1) nutrido

(2) desnutrido

(3) NS

(88) Não se aplica

44. Em relação ao seu IMC segundo Lipschitz (1994) o indivíduo é considerado: _____

(1) inferior a 22 - baixo peso

(2) 22-27 – eutrófico

(3) maior que 27 – obeso

(99) NS

(88) Não se aplica

45. Em relação ao seu IMC padrão para adultos (OMS) o indivíduo é considerado: _____

(1) Inferior a 18,5 - baixo peso

(2) 18,5 - 24,9 - normal

(3) 25,0 - 29,9 - sobrepeso

(4) 30,0 - 34,9 - obesidade classe I

(5) 35,0 - 39,9 - obesidade classe II

(6) igual ou superior a 40 - obesidade classe III

(99) NS

(88) Não se aplica

46. Exames laboratoriais foram realizados? _____

- (1) Sim
(2) Não

Exames realizados

Data				
46.1. Hematócrito				
46.2. Hemoglobina				
46.3. Leucócitos				
46.4. Plaquetas				
46.5. Uréia				
46.6. Creatinina				
46.7. Albumina				
46.8. Glicemia jejum				
46.9. Glicemia pós-prandial				
46.10. Colesterol total				
46.11. HDL-colesterol				
46.12. LDL-colesterol				
46.13. Triglicerídeos				
46.14. AST				
46.15. ALT				
46.16. TSH				

47. Se o indivíduo possui algum problema de saúde qual(is) o(s) sistema(s) envolvido(s)?

- 47.1. Cardiovascular: (1) Sim (2) Não (99) NS (88) Não se aplica _____
- 47.2. Cerebrovascular: (1) Sim (2) Não (99) NS (88) Não se aplica _____
- 47.3. Pulmonar: (1) Sim (2) Não (99) NS (88) Não se aplica _____
- 47.4. Osteo-articular: (1) Sim (2) Não (99) NS (88) Não se aplica _____
- 47.5. Gastro-intestinal: (1) Sim (2) Não (99) NS (88) Não se aplica _____
- 47.6. Genito-urinário: (1) Sim (2) Não (99) NS (88) Não se aplica _____
- 47.7. Metabólico e endócrino: (1) Sim (2) Não (99) NS (88) Não se aplica _____
- 47.8. Neuro-psiquiátrico: (1) Sim (2) Não (99) NS (88) Não se aplica _____
- 47.9. Órgãos dos sentidos: (1) Sim (2) Não (99) NS (88) Não se aplica _____
- 47.10. Outros: (1) Sim (2) Não (99) NS (88) Não se aplica _____

48. Das doenças listadas abaixo qual(is) o indivíduo possui?

- 48.1. Hipertensão arterial sistêmica: (1) Sim (2) Não (99) NS (88) Não se aplica _____
- 48.2. Insuficiência coronária: (1) Sim (2) Não (99) NS (88) Não se aplica _____
- 48.3. Insuficiência cardíaca: (1) Sim (2) Não (99) NS (88) Não se aplica _____
- 48.4. Insuficiência vascular periférica: (1) Sim (2) Não (99) NS (88) Não se aplica _____

- 48.5. Dislipidemia: (1) Sim (2) Não (99) NS (88) Não se aplica _____
- 48.6. Depressão: (1) Sim (2) Não (99) NS (88) Não se aplica _____
- 48.7. Osteoartrite: (1) Sim (2) Não (99) NS (88) Não se aplica _____
- 48.8. Micose superficial: (1) Sim (2) Não (99) NS (88) Não se aplica _____
- 48.9. Varizes: (1) Sim (2) Não (99) NS (88) Não se aplica _____
- 8.10. Seqüela de fratura: (1) Sim (2) Não (99) NS (88) Não se aplica _____
- 48.11. Seqüela de acidente vascular cerebral: (1) Sim (2) Não (99) NS (88) Não se aplica _____
- 48.11. Amputação de membro: (1) Sim (2) Não (99) NS (88) Não se aplica _____
- 48.12. Obesidade: (1) Sim (2) Não (99) NS (88) Não se aplica _____
- 48.13. Artrite Reumatóide: (1) Sim (2) Não (99) NS (88) Não se aplica _____
- 48.14. Diabetes Mellitus: (1) Sim (2) Não (99) NS (88) Não se aplica _____
- 48.15. Demência: (1) Sim (2) Não (99) NS (88) Não se aplica _____
- 48.16. Doença de Parkinson: (1) Sim (2) Não (99) NS (88) Não se aplica _____
- 48.17. Hipotireoidismo: (1) Sim (2) Não (99) NS (88) Não se aplica _____
- 48.18. Doença do colágeno: (1) Sim (2) Não (99) NS (88) Não se aplica _____
- 48.19. Doença hepática: (1) Sim (2) Não (99) NS (88) Não se aplica _____
- 48.20. Neoplasia maligna: (1) Sim (2) Não (99) NS (88) Não se aplica _____
- 48.21. Insuficiência renal: (1) Sim (2) Não (99) NS (88) Não se aplica _____
- 48.22. Sinais e sintomas inespecíficos: (1) Sim (2) Não (99) NS (88) Não se aplica _____
- 48.23. Outras: (1) Sim (2) Não (99) NS (88) Não se aplica _____
49. Com a avaliação realizada o indivíduo está apto a participar do estudo SOGI? _____
- (1) Sim
 (2) Não
 (3) Sim após modificações
50. Conduta terapêutica
- 50.1. Conduta geriátrica:
- 50.1.1. Retirada de medicamento: (1) Sim (2) Não (99) NS (88) Não se aplica _____
- 50.1.2. Acréscimo de medicamento: (1) Sim (2) Não (99) NS (88) Não se aplica _____
- 50.1.3. Substituição de medicamento: (1) Sim (2) Não (99) NS (88) Não se aplica _____
- 50.1.4. Encaminhamento ao especialista: (1) Sim (2) Não (99) NS (88) Não se aplica _____
- 50.1.5. Orientação de mudança de estilo de vida: (1) Sim (2) Não (99) NS (88) Não se aplica _____

50.1.6. Outras: (1) Sim (2) Não (99) NS (88) Não se aplica _____

50.2. Conduta gerontológica:

50.2.1. Encaminhamento para fisioterapia: (1) Sim (2) Não (99) NS (88) Não se aplica _____

50.2.2. Encaminhamento para terapia ocupacional: (1) Sim (2) Não (99) NS (88) Não se aplica _____

50.2.3. Encaminhamento para nutricionista: (1) Sim (2) Não (99) NS (88) Não se aplica _____

50.2.4. Encaminhamento para Centro-dia: (1) Sim (2) Não (99) NS (88) Não se aplica _____

50.2.5. Outras: (1) Sim (2) Não (99) NS (88) Não se aplica _____

Carimbo e assinatura

APÊNDICE B – Ficha de Avaliação 2

Ficha de Avaliação II
Universidade Federal do Ceará
Faculdade de Medicina
Programa de Pós-Graduação em Cirurgia
Projeto SOGI

Número do prontuário: _____

Número da avaliação: _____

Data: _____

Nome: _____

1. O(a) senhor(a) atualmente está com algum problema agudo de saúde?

- (1) Sim _____
(2) Não _____

2. O(a) senhor(a) está utilizando alguma erva com fins medicamentosos (chás, cápsulas de fitoterápicos, etc):

- (1) Sim _____
(2) Não _____

3. O(a) senhor(a) utiliza algum suplemento alimentar?

- (1) Sim _____
(2) Não _____

4. O(a) senhor(a) tomou alguma vacina nas últimas 6 semanas?

- (1) Sim _____
(2) Não _____

Qual?

5. O(a) senhor (a) já recebeu alguma transfusão sanguínea?

- (1) Sim _____
(2) Não _____

Hábitos de vida

6. O (a) senhor(a) fuma?

- (1) Sim _____
(2) Não _____

Se fuma, responda as seguintes questões abaixo:

Teste de Fagerstrom - Quanto tempo depois de acordar, você fuma o seu primeiro cigarro?

- (1) Após 60 minutos: 0 ponto
- (2) Entre 31 e 60 minutos: 1 ponto
- (3) Entre 6 e 30 minutos: 2 pontos
- (4) Nos primeiros 5 minutos: 3 pontos

Você encontra dificuldades em evitar fumar em lugares onde é proibido, como por exemplo: igrejas, local de trabalho, cinemas, *shoppings*, etc?*

- (1) Não: 0 ponto
- (2) Sim: 1 ponto

Qual o cigarro mais difícil de largar ou de não fumar?*

- (1) qualquer um: 0 ponto
- (2) o primeiro da manhã: 1 ponto

Quantos cigarros você fuma por dia?*

- (1) menos que 10: 0 ponto
- (2) entre 11 e 20: 1 ponto
- (3) entre 21 e 30: 2 pontos
- (4) mais que 31: 3 pontos

Você fuma mais freqüentemente nas primeiras horas do dia do que durante o resto do dia?*

- (1) não: 0 ponto
- (2) sim: 1 ponto

Você fuma mesmo estando doente a ponto de ficar acamado a maior parte do dia?*

- (1) não: 0 ponto
- (2) sim: 1 ponto

7. Pontuação: Teste de Fagerstrom:

- (1) Dependência leve: 0 a 4 pontos
- (2) Dependência moderada: 5 a 7 pontos
- (3) Dependência grave: 8 a 10 pontos
- (88) Não se aplica

8. Se já fumou - há quanto tempo parou de fumar?

- (1) < 12 meses
- (2) 12 meses e mais (ex-fumante)

(88) não se aplica

9. O (a) senhor(a) utiliza bebida alcoólica?

- (1) Sim
- (2) Não

Se utiliza, responda as seguintes questões:

CAGE - Alguma vez o (a) sr(a) sentiu que deveria diminuir a quantidade de bebida, ou parar de beber?- Avaliação alcoolismo.

- (1) Não
- (2) Sim

As pessoas o(a) aborrecem porque criticam o seu modo de beber (CAGE)?

- (1) Não
- (2) Sim

O(a) sr(a) costuma beber pela manhã para diminuir o nervosismo ou ressaca (CAGE)?

- (1) Não
- (2) Sim

O(a) sr(a) se sente culpado(a) pela maneira com que costuma beber (CAGE)?

- (1) Não
- (2) Sim

10. Avaliação CAGE:

- (1) 2 respostas ou mais sim: Alcoolismo _____
- (2) < 2 respostas sim: Não alcoolismo _____
- (88) Não se aplica _____

11. O(a) senhor(a) pratica alguma atividade física?

- (1) Sim _____
- (2) Não _____

Avaliação IPAQ - Versão Curta

1a. Em quantos dias da última semana o senhor (a) CAMINHOU por pelo menos 10 minutos contínuos em casa ou no trabalho, como forma de transporte para ir de um lugar para outro, por lazer ou como forma de exercício?

dias _____ por **SEMANA** () Nenhum

1b. Nos dias que o(a) sr(a) caminhou por pelo menos 10 minutos contínuos, quanto tempo no total o senhor(a) gastou caminhando por dia?*

horas: _____ Minutos _____

2a. Em quantos dias da última semana, o(a) sr(a) realizou atividades MODERADAS por pelo menos 10 minutos contínuos, como, por exemplo, pedalar leve na bicicleta, nadar, dançar, carregar pesos leves, fazer exercícios domésticos na casa, no quintal ou no jardim como varrer, plantar ou qualquer atividade que fez aumentar moderadamente sua respiração ou batimentos do coração (POR FAVOR, NÃO INCLUA CAMINHADA)?

dias _____ por **SEMANA** () Nenhum

2b. Nos dias em que o senhor(a) fez essas atividades moderadas por menos 10 minutos contínuos, quanto tempo no total o senhor (a) gastou fazendo essas atividades por dia?*

horas: _____ Minutos _____

3a. Em quantos dias da última semana, o(a) senhor(a) realizou atividades VIGOROSAS por pelo menos 10 minutos contínuos, como, por exemplo, correr, carregar criança no colo, pedalar rápido na bicicleta, fazer serviços domésticos pesados em casa, no quintal ou no trabalho, carregar pesos elevados ou qualquer atividade que fez aumentar muito sua respiração ou batimentos do coração?*

dias _____ por **SEMANA** () Nenhum

3b. Nos dias em que o senhor(a) fez essas atividades vigorosas por pelo menos 10 minutos contínuos quanto tempo no total o(a) senhor(a) gastou fazendo essas atividades por dia?*

horas: _____ Minutos _____

Estas últimas questões são sobre o tempo que o Senhor(a) permanece sentado todo dia, no trabalhando, na escola ou faculdade, em casa e durante seu tempo livre. Isto inclui o tempo sentado estudando, sentado enquanto descansa, fazendo lição de casa, visitando um amigo, lendo, sentado ou deitado assistindo TV. Não inclua o tempo gasto sentado durante transporte de ônibus, trem, metrô ou carro.

4a. Quanto tempo no total o senhor(a) gasta sentado durante um dia de semana?

_____ horas _____ minutos

4b. Quanto tempo no total você gasta sentado durante um dia de final de semana?

_____ horas _____ minutos

12. O(a) paciente em relação à atividade física é classificado como (IPAQ):

- (1) Sedentário
- (2) Insuficiente ativo A
- (3) Insuficiente ativo B
- (4) Ativo
- (5) Muito ativo
- (88) Não se aplica

13. O(a) senhor(a) utiliza alguma outra droga ilícita (maconha, cocaína etc)?

- (1) Sim
- (2) Não

14. O(a) senhor(a) está fazendo algum tipo de dieta ou regime atualmente?

- (1) Sim
- (2) Não

Qual?

15. O (a) senhor(a) se alimenta com alimentos fornecidos no Lar Torres de Melo?

- (1) Sim, todo o tempo
- (2) Sim, a maior parte do tempo.
- (3) Sim, ocasionalmente.
- (4) Não.

16. O(a) senhor(a) cozinha sua própria comida ou compra / recebe alimentos não fornecidos pelo Lar?

- (1) Sim, todo o tempo _____
 (2) Sim, a maior parte do tempo.
 (3) Sim, ocasionalmente.
 (4) Não.

Dos alimentos abaixo qual o senhor consome?:

- () leite
 () frutas
 () suco de frutas
 () refrigerantes. Qual? _____

Quais seus sucos de frutas preferidos?

1° _____ 2° _____ 3° _____ 4° _____

Reavaliação do Exame Físico (t₀)

Pressão arterial(d): _____ Pulso: _____ Temperatura: _____ Fr: _____

Pressão arterial(s): _____ Peso: _____ Altura: _____

Avaliação geral _____

Otoscopia: _____

Orofaringe: _____

ACP: _____

Abdome: _____

Extremidades: _____

Pele: _____

Outros: _____

Impressão diagnóstica: _____

17. Conclusão:

- (1) Indivíduo apto a participar do estudo _____
 (2) Indivíduo apresenta critérios para exclusão do estudo
 (3) Indivíduo necessita modificações para participar do estudo

Evolução:

18. - 2° tempo de coleta°

- 1) sem intercorrência
- 2) com intercorrência que não exclui indivíduo do estudo _____
- 3) com intercorrência que exclui o indivíduo do estudo

19.- 3° tempo de coleta

- 1) sem intercorrência
- 2) com intercorrência que não exclui o indivíduo do estudo _____
- 3) com intercorrência que exclui o indivíduo do estudo

20. - tempo de coleta

- 1) sem intercorrência
- 2) com intercorrência que não exclui o indivíduo do estudo _____
- 3) com intercorrência que exclui o indivíduo do estudo

Reavaliação do Exame Físico (após t_{60})

Pressão arterial(d): _____ Pulso: _____ Temperatura: _____ Fr: _____

Pressão arterial(s): _____ Peso: _____ IMC: _____

Avaliação geral _____

Otoscopia: _____

Orofaringe: _____

ACP: _____

Abdome: _____

Extremidades: _____

Pele: _____

Outros: _____

Impressão diagnóstica:

Final da intervenção: _____ / _____ / _____

Exames laboratoriais

Data	14/11/2007	28/11/2007	03/12/2007	17/12/2007
Tempo de suplementação	1ª. coleta	2ª coleta	3ª.coleta	4ª.coleta
21.Hematócrito	21.a	21.b	21.c	21.d
22.Hemoglobina	22.a	22.b	22.c	22.d
23.Leucócitos				
24.Linfócitos %	24.a	24.b	24.c	24.d
24.1.Linfócitos/mm ³	24.1.a	24.1.b	24.1.c	24.1.d
25.Uréia	25.a	25.b	25.c	25.d
26.Creatinina	26.a	26.b	26.c	26.d
27.Lactato	27.a	27.b	27.c	27.d
28.Glicemia jejum	28.a	28.b	28.c	28.d
29.AST	29.a	29.b	29.c	29.d
30.ALT	30.a	30.b	30.c	30.d
31.TSH	31.a	31.b	31.c	31.d
32.Fosfatase alcalina	32.a	32.b	32.c	32.d
33.Albumina	33.a	33.b	33.c	33.d
34.Pré-albumina	34.a	34.b	34.c	34.d
35.Eletroforese proteínas	35.a	35.b	35.c	35.d
36.Sumário de urina	36.a	36.b	36.c	36.d
37.LDH	37.a	37.b	37.c	37.d
38.Amônia	38.a	38.b	38.c	38.d
Avaliação capacidade antioxidante				
39.GSH	39.a	39.b	39.c	39.d
40.GSH/GSSG	40.a	40.b	40.c	40.d
41.TBARS	41.a	41.b	41.c	41.d
Avaliação do impacto via glicolítica /ação secretagoga de insulina				
40.Insulina	40.a	40.b	40.c	40.d
41.Peptídeo C	41.a	41.b	41.c	41.d

APÊNDICE C – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

(Em duas vias firmado por cada participante - voluntário(a) da pesquisa e pelo responsável)

(Necessário rubricar todas as páginas)

“O respeito devido à dignidade humana exige que toda pesquisa se processe após consentimento livre e esclarecido dos sujeitos, indivíduos ou grupos que por si e/ou por seus representantes legais manifestem a sua anuência à participação na pesquisa.”(Resolução.nº 196/96-IV, do Conselho Nacional de Saúde)

Título do projeto: Efeitos da suplementação oral de Glutamina em indivíduos de meia-idade e idosos.

Introdução

Você está convidado a participar de um projeto de pesquisa. Você foi escolhido como um candidato para este projeto porque não apresenta nenhuma doença que possa interferir no resultado do estudo e encontra-se numa faixa etária indicada para avaliação. Para que você participe é importante que você leia a descrição do estudo e o seu papel nele para que você decida se irá participar. Você também deve entender a natureza e riscos da participação, e fornecer o seu consentimento livre e esclarecido por escrito.

Propósito do Estudo

Sabe-se que com o envelhecimento há redução da capacidade do organismo de produzir determinadas substâncias que atuam nas reações chamadas de antioxidação no organismo humano com conseqüentemente, redução das defesas do organismo. Estas substâncias são formadas por diversas proteínas. O propósito deste trabalho é suplementar, por via oral (ou seja, oferecer para os indivíduos tomarem pela boca), uma quantidade de proteína (dependerá do seu peso a quantidade: 0,5g/Kg) durante 14 dias e avaliar, através de exames de laboratório, se haverá melhora das defesas do organismo. Esta quantidade é aproximadamente a quantidade de proteína contida num bife pequeno de carne bovina.

Todos os indivíduos participantes receberão proteína. Serão divididos em dois grupos e cada grupo receberá um tipo de proteína diferente.

Um **Comitê de Ética em Pesquisa** que assegura que este estudo não viola os direitos do indivíduo examinou e aprovou este projeto.

Procedimentos do Estudo que deverão ser seguidos

Se você concordar em participar neste estudo você:

- a) Será perguntado: sobre os seus problemas de saúde anteriores, sua saúde atual e sobre medicações que utilizou e que utiliza;
- b) Realizará um exame físico completo e se necessário, testes para avaliar a memória::
- c) Terá amostras de sangue, 20 a 30 mL (1 a 2 colheres de sopa) colhidas antes, nos 15º dia, 20º dia, no 34º dia de suplementação de proteína por via oral. Nestas amostras de sangue serão realizados vários exames para avaliar o estado do organismo como: hemograma, creatinina, uréia, transaminases, insulina, glicose, hormônio da tireóide, marcadores de inflamação e exames que avaliam a antioxidação do organismo.
- d) Receberá orientação para manter a alimentação que vem fazendo ultimamente, ou seja, não poderá fazer dietas e regimes novos além dos que já vem fazendo. Também será orientado a não modificar sua atividade física durante o estudo.

O procedimento do estudo será feito da seguinte maneira: os voluntários selecionados participarão de um dos 2 grupos:

Grupo 1- Indivíduos aos quais será administrado via oral (pela boca, para beber) uma solução de proteína rica em glutamina ;

Grupo 2- Indivíduos aos quais será administrado via oral (pela boca, para beber) uma solução de caseinato de cálcio.

Será determinado ao acaso, por um sistema aleatório de escolha (randomização) de qual grupo você participará. Isso significa que, as chances de entrar em um ou em outro grupo são iguais. Nem você, nem o coordenador de pesquisa, nem o seu médico saberão de que grupo estará participando. Em caso de uma emergência, seu médico poderá saber que tratamento(s) você está recebendo.

Riscos de Participação

Não há relatos de que a suplementação de proteína cause algum risco quando utilizada por via oral e na quantidade definida.

A glutamina está comercialmente disponível tanto como suplemento nutricional como medicação há vários anos, não havendo relato de riscos relacionados ao seu uso.

A punção na veia para a coleta de sangue poderá em alguns pacientes provocar uma inflamação no local, geralmente leve e com melhora em poucos dias. Isto se for tratada adequadamente. Caso ocorra alguma alteração deverá entrar em contato com o pesquisador para avaliação e orientação.

Possíveis Benefícios de Participação

A informação obtida, da sua participação neste estudo, pode mostrar se a suplementação de determinadas proteínas é benéfica para os indivíduos na faixa etária de 45 anos e mais de idade. Nenhum outro benefício de participação pode ser garantido.

Critérios de exclusão

Serão retirados do estudo, em qualquer momento, os indivíduos que apresentarem qualquer quadro de infecção ou que necessitem utilizar qualquer das medicações incluídas nos critérios de exclusão: antiinflamatórios, corticóides, medicamentos para colesterol e triglicerídeos elevados, medicamentos para anticoagulação do sangue, medicamentos que diminuam a imunidade, qualquer tipo de vitamina (sintética: vitamina comprada na farmácia) e qualquer tipo de suplementação alimentar.

Serão retirados do estudo também os pacientes que durante o estudo sejam diagnosticados como tendo as seguintes doenças: diabetes, demência, artrite reumatóide e outras doenças da imunidade, doença de Parkinson, problemas na tireóide, qualquer tipo de câncer, doenças no fígado, doenças no rim ou alcoolismo.

Compensação

A participação neste estudo ocorrerá sem qualquer custo para você. A avaliação clínica, exames laboratoriais e o material para suplementação serão gratuitos. Nenhuma compensação financeira será dada pela sua participação.

Responsabilidade

Deverá contar com a seguinte assistência: **Dra. Siulmara Cristina Galera** (telefones: 3234-5784 (residência); 3261-5092 (consultório) e celular 9983-5784.

Direito de Retirar-se do Estudo

A participação neste estudo é inteiramente voluntária. Você não é obrigado a participar. Seu tratamento e a atitude de seu médico em relação a você, não serão afetados se você decidir não participar deste estudo. Se você não quiser participar do estudo, isto não afetará qualquer benefício que você possui. Se você decidir participar, você precisará assinar este documento para dizer que você está dando o seu consentimento.

Sempre que desejar, serão fornecidos esclarecimentos sobre cada uma das etapas do estudo. A qualquer momento, você poderá recusar a continuar participando do estudo e, também, que você, poderá retirar este seu consentimento, sem que isso lhe traga qualquer penalidade ou prejuízo.

Confidenciabilidade

As informações conseguidas através da sua participação não permitirão a identificação da sua pessoa, exceto aos responsáveis pelo estudo. A divulgação das mencionadas informações só será feita entre os profissionais envolvidos no estudo.

Você receberá uma cópia deste termo de consentimento livre e esclarecido e poderá pedir informações adicionais, a qualquer momento durante o estudo.

O seu médico é o(a) **Dr(a): Siulmara Cristina Galera** telefones: (85) 3234-5784(residência); (85) 3261-5092(consultório);(85) 9983-5784(celular).

Se você tiver perguntas a respeito dos seus direitos como um sujeito da pesquisa, você poderá também entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) – **COMEPE – Rua Coronel Nunes de Melo, 1127 – Rodolfo Teófilo** ou através do telefone **4009-8338**.

Endereço do responsável pela pesquisa:

Dra Siulmara Cristina Galera

Av. Senador Virgílio Távora 1901 - sala 405 - Edifício Noven Center – Aldeota

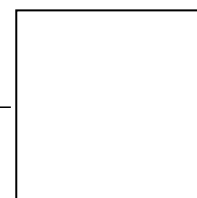
Poderá ser encontrada nos seguintes telefones:

Fones: **3234-5784** (res); **3261-5092**(consultório); celular: **9983-5784** .

Consentimento

Finalmente, tendo eu compreendido perfeitamente tudo o que me foi informado sobre a minha participação no mencionado estudo e estando consciente dos meus direitos, das minhas responsabilidades, dos riscos e dos benefícios que a minha participação implicam, concordo em dele participar e para isso eu DOU O MEU CONSENTIMENTO SEM QUE PARA ISSO EU TENHA SIDO FORÇADO OU OBRIGADO.

Nome: _____
(letra de fôrma)



Polegar direito

Assinatura: _____ Data: ____/____/____

Testemunha (se necessário):

Nome: _____
(letra de fôrma)

Assinatura: _____ **Data:** ____/____/____

Pessoa que colheu a assinatura do termo de Consentimento:

Nome: _____
(letra de fôrma)

Função no projeto: _____

Assinatura: _____ **Data:** ____/____/____

Pesquisador:

Nome: _____
(letra de fôrma)

Assinatura: _____ **Data:** ____/____/____

APÊNDICE D – Dados brutos

Dosagem		Gutaciona Total			
Avaliação	Idade	Glutamina		Caseinato	
N°	Anos	Antes	Depois	Antes	Depois
46	47	959,59	852,19	861,99	1102,39
73	84	1664,55	1428,79	764,39	760,39
95	82	919,73	1713,99	1312,99	1337,39
116	56	1127,38	845,99	998,79	896,79
139	70	1127,38	861,99	1168,79	1289,19
141	62	863,23	1193,39	915,59	909,99
161	80	1225,25	859,39	983,19	959,79
170	72	1161,39	1090,59	1177,79	1089,39
190	62	883,26	792,99	856,59	701,79
220	64	1331,06	995,59	830,19	1055,19
230	70	1241,88	755,79	899,59	960,79
260	65	1064,27	771,79	787,19	792,19
262	67	757,42	883,79	1000,79	889,39
263	72	1312,55	1226,79	1159,79	1080,19
6	84	644,19	926,19	966,02	618,59
10	69	924,19	1348,19	928,23	633,59
48	69	1176,39	1511,99	1264,74	867,39
60	61	1139,79	1589,39	901,78	671,79
65	69	811,39	1125,19	952,41	1028,59
70	69	931,99	1030,79	1126,43	966,79
78	69	774,19	1123,99	891,38	655,39
87	80	1221,39	1099,99	995,49	908,99
100	75	973,79	831,19	1014,01	1012,59
120	70	1184,19	1194,59	913,68	906,19
123	71	838,19	787,99	873,25	824,19
172	81	962,79	716,19	1291,95	715,39
181	67	990,39	1095,19	1336,16	931,99
205	67	820,79	747,79	952,41	698,79
214	53	1019,99	1404,99	1191,62	653,19
261	62	1465,79	1352,99	1285,9	1163,59

Dosagens		GSht	GSSG	Razão	GSht	GSSG	Razão
Avaliação	Idade		Antes			Depois	
N°	Anos			Glutamina			
46	47	361,99	24,37	12,85	623,85	42,37	12,72
73	84	838,69	37,04	20,64	932,28	9,20	99,37
95	82	162,86	32,88	2,95	1229,40	48,44	23,38
116	56	374,11	34,10	8,97	674,23	22,66	27,75
139	70	318,59	45,38	5,02	709,97	32,58	19,79
141	62	273,89	29,24	7,37	884,22	27,32	30,36
161	80	101,78	17,61	3,78	684,87	14,99	43,70
170	72	347,58	33,06	8,51	856,96	26,98	29,77
190	62	232,62	36,14	4,44	659,43	4,10	158,68
220	64	383,11	33,10	9,58	941,25	12,30	74,51
230	70	284,53	40,92	4,95	594,75	37,63	13,81
260	65	153,03	6,83	20,39	584,11	13,20	42,26
262	67	328,09	8,37	37,18	660,09	6,61	97,82
263	72	175,96	23,69	5,43	850,80	13,25	62,24
6	84	499,94	12,61	37,65	809,48	53,29	13,19
10	69	803,72	11,33	68,93	951,09	62,25	13,28
48	69	2112,29	14,04	148,43	801,24	63,10	10,70
60	61	966,89	17,32	53,84	900,02	75,59	9,91
65	69	521,32	7,95	63,62	850,13	67,91	10,52
70	69	704,70	5,71	121,44	846,77	77,93	8,87
78	69	669,51	10,98	58,98	911,11	44,10	18,66
87	80	870,74	14,19	59,38	813,34	64,92	10,53
100	75	583,80	12,09	46,30	805,28	77,41	8,40
120	70	851,04	5,41	155,42	745,30	57,71	10,92
123	71	701,50	5,14	134,54	810,32	57,00	12,22
172	81	605,86	5,01	119,00	873,65	71,30	10,25
181	67	734,68	4,31	168,65	880,03	91,34	7,63
205	67	524,36	6,80	75,08	929,75	46,84	17,85
214	53	990,63	9,23	105,39	809,98	44,67	16,13
261	62	921,76	21,49	40,90	987,71	118,01	6,37

Dosagens		GSht	GSSG	Razão	GSht	GSSG	Razão
Avaliação	Idade		Antes			Depois	
N°	Anos			Caseinato			
46	47	686,52	8,71	76,83	985,02	73,12	11,47
73	84	560,39	5,32	103,27	998,12	48,65	18,52
95	82	1076,51	18,18	57,22	785,96	78,06	8,07
116	56	769,70	7,80	96,67	834,00	55,08	13,14
139	70	921,93	19,45	45,40	1675,28	166,61	8,05
141	62	690,39	6,57	103,10	850,80	65,25	11,04
161	80	675,07	3,80	175,51	818,71	71,56	9,44
170	72	927,65	11,92	75,81	823,08	62,51	11,17
190	62	648,80	8,62	73,27	891,28	63,10	12,12
220	64	558,03	4,48	122,45	910,10	60,00	13,17
230	70	654,02	14,33	43,64	873,65	54,90	13,91
260	65	529,74	2,46	213,23	751,86	112,29	4,70
262	67	687,53	15,17	43,32	905,23	60,52	12,96
263	72	791,43	11,69	65,71	902,04	73,84	10,22
6	84	263,70	22,59	9,70	465,72	16,82	25,69
10	69	611,72	42,33	12,45	505,30	27,84	16,15
48	69	298,45	25,49	9,71	785,46	52,41	12,99
60	61	458,28	39,81	9,51	772,82	10,15	74,17
65	69	338,41	20,29	14,68	866,93	34,43	23,18
70	69	291,24	10,09	26,88	902,85	20,59	41,85
78	69	284,53	20,14	12,13	585,77	27,11	19,61
87	80	162,86	27,01	4,03	832,02	17,43	45,74
100	75	180,05	26,75	4,73	1008,59	9,98	99,03
120	70	192,99	39,90	2,84	678,22	10,08	65,30
123	71	281,91	37,64	5,49	584,77	13,75	40,52
172	81	872,10	58,00	13,03	557,34	2,09	264,76
181	67	292,06	28,39	8,29	675,22	15,96	40,30
205	67	218,37	47,01	2,64	487,84	4,13	116,09
214	53	232,62	46,08	3,05	497,15	17,61	26,24
261	62	860,30	72,90	9,80	919,14	36,18	23,41

Avaliação	Idade	TBARS			
	Idade	Antes	Depois	Antes	Depois
	Nº	Anos	Glutamina		Caseinato
46	47	681,50	856,30	1197,80	669,10
73	84	390,30	694,50	1291,80	551,60
95	82	539,20	785,10	1033,30	986,30
116	56	493,90	364,50	915,80	633,80
139	70	875,70	959,80	1127,30	1432,80
141	62	1108,70	1063,40	351,80	821,80
161	80	500,40	422,70	1068,60	704,30
170	72	804,50	655,70	1280,10	798,30
190	62	713,90	565,10	1926,30	692,60
220	64	759,20	688,00	1233,10	622,10
230	70	1102,20	836,90	1750,10	1303,60
260	65	823,90	306,20	457,60	375,30
262	67	403,30	642,70	610,30	563,30
263	72	869,20	1639,30	2008,60	892,30
6	84	1174,30	751,30	396,80	603,90
10	69	1362,30	1444,60	260,90	856,30
48	69	1432,80	974,60	1044,00	817,50
60	61	798,30	939,30	823,90	209,10
65	69	539,80	939,30	403,30	655,70
70	69	1186,10	1045,10	1056,90	694,50
78	69	1620,80	1256,60	811,00	778,60
87	80	563,30	551,60	493,90	493,90
100	75	633,80	669,10	655,70	856,30
120	70	962,80	1009,80	526,20	649,20
123	71	316,60	387,10	752,70	565,10
172	81	716,10	504,60	655,70	429,20
181	67	892,30	610,30	552,10	500,30
205	67	1421,10	892,30	1212,20	532,70
214	53	927,60	763,10	1089,30	474,50
261	62	1867,60	1350,60	752,70	733,30

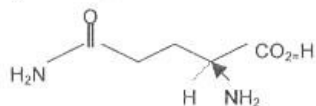
ANEXOS

ANEXO A – Ficha técnica dos suplementos

143

L-Glutamina DAB L-Glu (NH₂)

L-Glutamina
ácido (S)-2-Aminoglutaramico



CAS No. 56-85-9

C₅H₁₀N₂O₃: 146.14
Nitrogênio: 19.17%

A L-Glutamina, quando seca, contém não menos que 99.0 por cento e não mais que 101.0 por cento de L-Glutamina (C₅H₁₀N₂O₃).

Descrição: Cristais ou pó cristalino brancos; sabor ligeiramente característico. Solúvel em água, praticamente insolúvel no etanol (95) e no éter dietil.
Solubilidade (H₂O, g/100g): 3.73 (20°C), 6.57 (40°C), 11.2 (60°C)

Identificação: Comparação do gráfico de absorção infravermelho da amostra com o do padrão pelo método do disco do brometo do potássio.

Especificações

Item	Limite	Teste	
Rotação Específica [α] _D ²⁰	+ 6.3 a + 7.3° + 31.5 a + 33.0°	AJI TEST 1	[amostra seca, C=4, H ₂ O] [amostra seca, C=10, 2mol/L HCl] ¹
Estado da Solução (Transmittance)	Claro e Transparente Não menos que 98.0%	AJI TEST 2	[0.5g em 20mL de H ₂ O, espectrofotômetro, 430nm, célula de 10mm]
Cloro (Cl)	Not more than 0.020%	AJI TEST 3	[0.5g, A-1, ref: 0.28mL de 0.01mol/L HCl]
Amônia (NH₄)	Não mais que 0.10%	AJI TEST 4	[45°C, A-Titrimetry]
Sulfato (SO₄)	Não mais que 0.020%	AJI TEST 5	[0.85g, (1), ref: 0.35mL de 0.005mol/L H ₂ SO ₄]
Ferro (Fe)	Não mais que 10ppm	AJI TEST 6	[0.75g, ref: 0.75mL de Ferro Padrão (0.01mg/mL)]
Metais Pesados (Pb)	Não mais que 10ppm	AJI TEST 7	[1.0g, (1), ref: 1.0mL de Padrão Pb (0.01mg/mL)]
Arsênico (As₂O₃)	Não mais que 1ppm	AJI TEST 8	[2.0g, (1), ref: 2.0mL de As ₂ O ₃ Std.]
Outros aminoácidos	Conforme	AJI TEST 9	[Amostra teste: 50µg, B-6-a, controle: L-Glu (NH ₂) 0.25µg]
Perda por secagem	Não mais que 0.30%	AJI TEST 11	[1g, a 105°C por 3 horas]
Resíduo na ignição (sulfatado)	Não mais que 0.10%	AJI TEST 13	[1g, a 550°C a 650°C por 3 horas]
Dosagem	99.0 a 101.0%	AJI TEST 14	[amostra seca, 150mg, (1), 3mL de ácido fórmico, 50mL de ácido acético, (100), 0.1mol/L HClO ₄ 1mL=14.614mg C ₅ H ₁₀ N ₂ O ₃]
PH	4.5 a 6.0	AJI TEST 33	[1.0g em 50mL de H ₂ O]

O teste para substâncias pirogênicas quando o material é utilizado na produção de produto parenteral é o seguinte:

Endotoxina	Menos que 50.0 EU/g	AJI TEST 34	[C=0.12, kinetic-turbidimetrictechnique]
-------------------	---------------------	-------------	--

¹ Para impedir a decomposição da L-Glutamina pelo ácido hidroclicórico, medir dentro de 30 minutos após a preparação da solução da amostra.

² Impureza provável: L-Ácido Glutâmico

AJINOMOTO



Versão da Espec.: 001
Data de Revisão: 12/6/2007

ESPECIFICAÇÃO TÉCNICA DE MATÉRIA-PRIMA

Kerry do Brasil Ltda. Rua Cristiano Alves da Silva, n. 15, Parque Jussara 37410-000, Três Corações-MG-Brasil
Fax (019) 37655009 Telefone (019) 37655000 ou 37655017

DETALHES DO PRODUTO

Código do Item: 530007
Nome: Caseinato de cálcio
Descrição: Proteína de leite em pó tratada com monooleato de glicerila de grau alimentício

DECLARAÇÃO DE INGREDIENTES

Caseinato de cálcio e monoglicerídeos

DECLARAÇÃO RECOMENDADA

Caseinato

MODO DE APLICAÇÃO / NÍVEL DE USO RECOMENDADO OU GESTÃO DIÁRIA ACEITA

PARÂMETROS ANALÍTICOS (Obs: Constar nos laudos de análises)

Teste	Min	Típico	Max	Unidade	Método
Proteínas Totais	92,1	92,1		G/100G	
Gorduras Totais		1,5	2	G/100G	
Cinzas			4,5	G/100G	
Umidade			6	G/100G	
pH	6,8		7,5		
Contagem Total (UFC/g)			3000	CFU/G	
Coliformes Totais (UFC/g)			1	CFU/G	
E. coli em 1g			0	CFU/G	
Salmonella spp. em 25g			0		
Estafilococos Coagulase			0	CFU/G	
Bolores e Leveduras (UFC/g)			10	CFU/G	

PARÂMETROS ANALÍTICOS - Parâmetros Caracterizadores (Facultativo a informação no laudo)

Teste	Min	Típico	Max	Unidade	Método
Lactose (percent)			0,3	G/100G	
Densidade	0,3		0,4	G/ML	

AVALIAÇÃO SENSORIAL:



Versão da Espec.: 001
Data de Revisão: 12/6/2007

ESPECIFICAÇÃO TÉCNICA DE MATÉRIA-PRIMA

Kerry do Brasil Ltda. Rua Cristiano Alves da Silva, n. 15, Parque Jussara 37410-000, Três Corações-MG-Brasil
Fax (019) 37655009 Telefone (019) 37655000 ou 37655017

Aparência: Pó
Cor: Branco a levemente creme
Odor: Isento de odores estranhos
Sabor: Isento de sabores estranhos

GRANULOMETRIA (Se aplicável):

* N/A - Não aplicável ou não requerido para esse tipo de Matéria-prima

INFORMAÇÕES ADICIONAIS:

Partículas queimadas: Disco A (CONSTAR NO LAUDO)

Solubilidade em água: mínimo 99%

Partículas queimadas: Disco A-B

No recebimento avaliar pH, umidade e descrição sensorial



Versão da Espec.: 001
Data de Revisão: 12/6/2007

ESPECIFICAÇÃO TÉCNICA DE MATÉRIA-PRIMA

Kerry do Brasil Ltda. Rua Cristiano Alves da Silva, n. 15, Parque Jussara 37410-000, Três Corações-MG-Brasil
Fax (019) 37655009 Telefone (019) 37655000 ou 37655017

INFORMAÇÃO NUTRICIONAL

Nutrientes	Valor Típico	Unidade
Valor Energético em kcal	377,0	KCAL/100G
Valor Energético em kJ	1.601,0	KJ/100G
Carboidratos Totais	0,1	G/100G
Proteína	92,1	G/100G
Gorduras Totais	1,5	G/100G
Gorduras Saturadas	1,1	G/100G
Gorduras Trans	0,1	G/100G
Fibras Alimentares	0,0	G/100G
Sódio	5,0	MG/100G

GRUPOS POPULACIONAIS

Sim = Adequado para, Não = Inadequado

Adequado para Ovo-lacto Vegetarianos	Sim
Adequado para Vegetalistas (Vegetariano estrito)	Não
Aprovado pelos preceitos judaicos (Kosher)	Sim
Aprovada pelos preceitos islâmicos (Halal)	Não
Adequado para Diabéticos	Sim
Adequado para Ovo Vegetarianos	Não
Adequado para Lacto Vegetarianos	Sim
Adequado para Celíacos	Sim

ADITIVOS

Monoglicerídeos (INS 471) - emulsificante

ORGANISMOS GENETICAMENTE MODIFICADOS

O produto é considerado livre de OGM?	Sim
O produto deve ser rotulado como geneticamente modificado?	Não

OGM COMENTÁRIOS

O material deve estar livre da presença de qualquer OGM - organismo geneticamente modificado e atender às disposições legais vigentes

IRRADIAÇÃO

O produto foi irradiado?	Não
--------------------------	-----



Versão da Espec.: 001
Data de Revisão: 12/6/2007

ESPECIFICAÇÃO TÉCNICA DE MATÉRIA-PRIMA

Kerry do Brasil Ltda. Rua Cristiano Alves da Silva, n. 15, Parque Jussara 37410-000, Três Corações-MG-Brasil
Fax (019) 37655009 Telefone (019) 37655000 ou 37655017

Free-From data (dados de alergênicos / intolerância)

Produtos de Origem Animal	Sim = Ausente, Não = Presente	Comentários
Outros produtos de origem animal	Sim	
Peixe/ Frutos do mar/ Derivados	Sim	
Carne/ Derivados	Sim	
Frango/ Derivados	Sim	
Lactose	Não	Proteína Lactea
Porco/ Derivados	Sim	
Coalho (se não, descrever tipo)	Sim	
Ovo/ Derivados	Sim	
Gelatina	Sim	
Molusco/ Crustáceos/ Derivados	Sim	
Leite/ Derivados	Não	Proteína Lactea

Cereais / Vegetais / Frutas	Sim = Ausente, Não = Presente	Comentários
Glúten	Sim	
Soja / Derivados	Sim	
Vegetais/ Derivados	Sim	
Alho/ Derivados	Sim	
Cebola/ Derivados	Sim	
Fruta & Derivados de Fruta	Sim	
Cereais contendo glúten	Sim	
Umbelliferae/ Derivados	Sim	
Aipo/ Derivados	Sim	
Milho / Derivados	Sim	
Tremoço e derivados	Sim	

Castanhas e Sementes (incluindo óleos ou outros derivado)		
Sementes e Derivados	Sim = Ausente, Não = Presente	Comentários
Amendoins / Derivados	Sim	
Coco/ derivados	Sim	
Palma / Palmiste / derivados	Sim	
Sementes de gergelim	Sim	
Outros Óleos de castanhas	Sim	
Óleo de semente/ outros óleos vegetais	Sim	
Outras castanhas/ derivados	Sim	
Outras Sementes (excluindo condimentos)	Sim	
Sementes de Papoula	Sim	
Mostarda / Derivados	Sim	
Sementes de Algodão	Sim	



Versão da Espec.: 001
Data de Revisão: 12/6/2007

ESPECIFICAÇÃO TÉCNICA DE MATÉRIA-PRIMA

Kerry do Brasil Ltda. Rua Cristiano Alves da Silva, n. 15, Parque Jussara 37410-000, Três Corações-MG-Brasil
Fax (019) 37655009 Telefone (019) 37655000 ou 37655017

<u>Free-From Outros</u>	Sim = Ausente, Não = Presente	Comentários
Levedura/ Extrato de Levedura	Sim	
Corantes Naturais	Sim	
Corantes Artificiais	Sim	
Conservador	Sim	
Nucleotídeos INS 627, 631, 635	Sim	
Aditivos	Não	INS 471
Edulcorantes (Artificiais)	Sim	
Ácidos Orgânicos	Sim	
BHA/ BHT- E320/E321 (calculado)	Sim	
Álcoois	Sim	
Aspartame	Sim	
Cafeína	Sim	
Cacau/ Derivados	Sim	
Aroma de Reação/Transformação	Sim	
Aromas Artificiais	Sim	
Aromas Naturais	Sim	
Aromas Idênticos aos Naturais	Sim	
Aromas de fumaça	Sim	
SO2 (incluir nível em ppm)	Sim	
Total de HVP/ TVP (calculado)	Sim	
Total de MSG e outros Glutamatos (calculado)	Sim	
Benzoatos	Sim	
Nitritos e Nitratos	Sim	
Nitrofurano & Azodicarbonamida	Sim	

SHELF-LIFE & ARMAZENAMENTO

Manter em local seco e fresco e livre de odores estranhos

Shelf-Life (Embalagem fechada) 730 Dias a partir da data de fabricação

EMBALAGEM

Peso Líquido 20KG

Peso Bruto 20,4KG

Tipo de Embalagem: Saco de papel multifolhado com polietileno interno

TRANSPORTE:

Deve ser transportado em veículo limpo e seco, que tenha condições de manter a temperatura adequada do produto e livre de substâncias ou produtos que possam contaminá-lo ou danificá-lo, de acordo com as Boas Práticas de Transporte, e que seja apropriado para o transporte de alimentos.

COMENTÁRIOS



Versão da Espec.: 001
Data de Revisão: 12/6/2007

ESPECIFICAÇÃO TÉCNICA DE MATÉRIA-PRIMA

Kerry do Brasil Ltda. Rua Cristiano Alves da Silva, n. 15, Parque Jussara 37410-000, Três Corações-MG-Brasil
Fax (019) 37655009 Telefone (019) 37655000 ou 37655017

DATA LIMITE PARA RECEBIMENTO DE INSUMO

Máximo de 4 meses transcorridos entre data de fabricação e data de faturamento para Kerry.

REQUISITOS GERAIS & GARANTIA

A informação contida neste documento é verdadeira do melhor do nosso conhecimento.
Qualquer modificação na qualidade e/ou especificação e/ou processos de fabricação e/ou formulação do material fornecido deverá ser informada pelo fornecedor e aprovada pela Kerry do Brasil Ltda.
O produto e embalagem utilizada deverão estar em acordo com as legislações vigentes aplicáveis.

AUTORIZAÇÃO

Autorizado em nome da Kerry do Brasil Ltda

Assinatura

Nome

Cargo

Data 12/6/2007

Autorizado em nome do Fornecedor

Nome

Assinatura

Cargo

Empresa

Data

Aminograma do Caseinato de cálcio

Média dos valores possíveis:

- Isoleucina: 5,8 g/16.N
- Leucina: 10,1 g/16.N
- Lisina: 8,3 g/16.N
- Metionina: 3 g/16.N
- Cistina: 0,4 g/16.N
- Fenilalanina: 5,4 g/16.N
- Tirosina: 5,8 g/16.N
- Treonina: 4,6 g/16.N
- Triptofano: 1,4 g/16.N
- Valina: 7,4 g/16.N
- Arginina: 3,8 g/16.N
- Histidina: 3,2 g/16.N

Fonte: Kerry do Brasil Ltda.

ANEXO B – Tradução da técnica e catálogos dos exames específicos

Tradução da técnica (Bulas)**Técnicas laboratoriais dos exames específicos de avaliação da capacidade de antioxição****▪ Glutathiona oxidada e reduzida (GSH/GSSG) - 412 Assay**

Preparo dos reagentes

- NADPH: preparar imediatamente antes do uso, reconstituir com 7,5 mL do Tampão de Ensaio (*Assay buffer*). Após a reconstituição é estável por 6 horas à temperatura ambiente.
- Tampão de ensaio (*Assay buffer*): reconstituir com 650 mL da água deionizada. Estável a 4°C enquanto usar o *kit*.
- Ácido metafosfórico 5%: preparar no dia do uso. Pesar 1g de MPA e dissolver em 20 mL de água deionizada.
- MPA e NADPH: devem ser usados no mesmo dia em que forem reconstituídos.
- Padrão GSSH: está pronto para uso.

Amostra GSSG

1. Colocar 10µL de M2VP em um tubo de microcentrifuga.
2. Colocar cuidadosamente 100 µL de sangue total no fundo do tubo.
3. Homogeneizar gentilmente.
4. Armazenar a amostra a – 70°C (Amostra é estável por 30 dias à – 70°C).
5. Descongelar a amostra e misturar imediatamente, incubar à temperatura ambiente por 2 a 10 minutos.
6. Adicionar 290 µL de MPA 5% gelado (diluição 1/4 da amostra original).
7. Amostra em vórtex por 15 a 20 segundos.
8. Centrifugar a 1000g ou mais por 10 minutos.
9. Colocar 50 µL do extrato MPA em 700 µL do tampão GSSG (diluição 1/15 do extrato ácido).
10. Coloque o extrato diluído em gelo até usar (Diluição da amostra final é 1/60).

Branco GSSG

1. Colocar 50 µL de MPA em 700 µL do tampão GSSG (diluição 1/15 do extrato ácido).
2. Coloque o MPA diluído em gelo até usar (diluição final da amostra é 1/60).

Amostra GSH

1. Adicione cuidadosamente 50 µL do sangue total no fundo de um tubo de microcentrifuga.
2. Congelar a amostra a – 70°C (amostra é estável por 30 dias a – 70°C).
3. Descongelar a amostra e misturar imediatamente.

4. Adicionar 350 μL de 5% MPA gelado ao tubo (diluição 1/8 da amostra original).
5. Amostra em vórtex por 15-20 segundos.
6. Centrifugar a 1000g ou mais por 10 minutos.
7. Adicionar 50 μL do extrato MPA em 3 mL do Tampão de Ensaio (diluição 1/61 do extrato ácido).
8. Deixar o extrato ácido em gelo até o uso (diluição final da amostra é 1/488).

Procedimento do ensaio

1. Adicionar 200 μL dos padrões, branco ou amostras para as cubetas.
2. Adicionar 200 μL do Cromogênio para cada cubeta.
3. Adicionar 200 μL da Enzima para cada cubeta.
4. Homogeneizar e incubar à temperatura ambiente por 5 minutos.
5. Adicionar 200 μL de NADPH para cada cubeta.
6. Fazer a leitura em 412 nm (absorbância) com 1, 2 e 3 minutos.

Cálculos

O cálculo das concentrações de GSH e GSSG e a relação GSH/GSSG requer 4 etapas:

1. Determinação da taxa de reação,
2. Construção da Curva de calibração,
3. Cálculo das concentrações,
4. Cálculo da relação GSH/GSSG.

Determinação da taxa:

$A_{412} = \text{slope} \times \text{Minutes} + \text{intercept}$, onde:

Slope da equação de regressão = taxa.

Note que os *intercepts* para estas curvas são ignorados porque dependem do *background* DTNB e do intervalo de tempo entre a adição do NADPH (começo da reação) e a mensuração da 1ª leitura A_{412} feita.

Curva de calibração

O teste GSH/GSSG-412 utiliza 6 pontos para a curva padrão para ambos os ensaios. O índice líquido (*Net Rate*) é a diferença entre as taxas de cada concentração de GSH e a taxa do branco.

Como a concentração de GSSH é muito mais baixa na reação mista comparada com a do GSH_t , recomenda-se que o limite de variação selecionado a partir da curva padrão seja *plotada* separadamente. Para GSH_t , faça a regressão linear sobre 3 pontos da curva utilizando 0; 1.50; e 3.0 μM . Para GSSG, usar os pontos 0; 0.10; 0.25 e 0.50 μM .

Concentrações GSH_t e GSSG

A forma geral da equação de regressão da curva de calibração é:

Índice líquido (*Net Rate*) = grau de inclinação (*Slope*) x GSH + intercepção (*intercept*)

Portanto, para calcular a concentração analítica da curva de calibração GSH:

$$\text{GSH}_t = \frac{\text{Índice líquido} - \text{intercepção}}{\text{Grau de inclinação}} \times \text{fator de diluição}$$

Razão GSH/GSSG

Calculada pela divisão da diferença entre as concentrações de GSH_t e GSSG (GSH reduzido) pela concentração de GSSG.

$$\text{Razão} = \frac{\text{GSH}_t - 2 \text{ GSSG}}{\text{GSSG}}$$

▪ **Glutathione Total (GSH) 420 -Assay**

Os reagentes devem ser estocados a 2 - 8°C no escuro. O reagente de Precipitação pode degradar com o tempo após ser aberto. O odor de clorofórmio é o sinal de degradação.

Normas de procedimento da coleta das amostras.

Sangue total

1. Homogeneizar o sangue por inversão.
2. Colocar 100 µL do sangue total em um tubo *eppendorf*.
3. Adicionar 300 µL do Reagente de Precipitação.
4. Vortex por 15 segundos.
5. Centrifugar a 10.000g por 5 minutos à temperatura ambiente.
6. Coletar o sobrenadante para o ensaio. Guardar em banho de gelo por 24 horas ou em freezer - 70°C.

Procedimentos do ensaio

1. Adicionar 200 µL do sobrenadante da amostra (ou do calibrador) no tubo teste.
2. Adicionar 200 µL do Tampão (*Buffer*).
3. Adicionar 200 µL do Agente Redutor (*Reducing Agent*) e misturar bem.
4. Adicionar 200 µL do Cromogênio e misturar bem.
5. Adicionar 200 µL do Revelador de Cor (*Color Developer*) e misturar bem.
6. Incubar a temperatura ambiente no escuro por 30 minutos.
7. Medir a absorbância em 420nm.

Calibração

Uma curva de calibração com 3 pontos é preparada com cada grupo de amostra utilizando água como calibrador zero. Calibradores alto e baixo são fornecidos e adicionados no passo 1 do procedimento do ensaio.

Os calibradores consistem de glutatona dissulfido, que é glutatona-oxidada (GSSG) e durante o ensaio é reduzido a GSH. Dois moles de GSH resultam de cada mol de GSSG.

Cálculos

A absorbância 420 nm é linearmente proporcional à concentração de GSH.

Sensibilidade do ensaio: 3,29 μM GSH. Valor de referência do ensaio: 568 a 1511 μM

Limitações

- O cromóforo formado no ensaio é fotossensível. A reação deve ser incubada no escuro. Há 5% de perda na absorbância quando exposta a luz por 30 minutos e perda de 70% após 24 horas de exposição à luz.

▪ **Substância Reativa Ácido Tiobarbitúrico (TBARS)**

O *kit* deve ser estocado a 0 – 4°C.

Preparo dos reagentes

1. Ácido tiobarbitúrico (TBA) – está pronto para uso no preparo do Reagente de Cor. Um frasco é suficiente para 24 poços.
2. Ácido acético TBA – lentamente adicionar 40 mL de ácido acético TBA a 160 mL de água. Esta solução é utilizada para preparar o reagente de cor. É estável por 3 meses a temperatura ambiente. Um frasco de Ácido Acético TBA é suficiente para avaliar 96 poços.
3. Hidróxido de sódio TBA (10X) – diluir 20 mL de Hidróxido de sódio TBA com 180 mL de água. Esta solução de NaOH diluída é utilizada para preparar o reagente de cor. É estável por 3 meses à temperatura ambiente. É suficiente para avaliar 96 poços. Estocar esta solução em frasco de plástico apropriado para material corrosivo.
4. Padrão Malondialdeído (MDA) – está pronto para utilizar no preparo da curva-padrão. É suficiente para preparar 4 curvas padrões.
5. Solução SDS TBA – está pronta para utilizar como suprimento. É suficiente para avaliar 96 poços.
6. Reagente de Cor – adicionar o frasco de TBA a um frasco de *Becker* contendo 25 mL da solução de ácido acético TBA diluído. Enxaguar o frasco de TBA com mais 25 mL de solução de ácido acético TBA diluído. Adicionar 50 mL de Hidróxido de sódio TBA diluído e misturar

até que o TBA esteja completamente dissolvido. Esta quantidade é suficiente para avaliar 24 poços. A solução é estável por 24 horas.

Preparo da amostra: soro com estocagem possível em freezer – 80°C por até 30 dias. Não precisa diluir o soro antes do ensaio.

Procedimento do ensaio

- Todos os reagentes exceto as amostras devem estar à temperatura ambiente antes de iniciar o ensaio.
- Solução SDS, se armazenada em refrigerador, deverá ser retirada 1 hora antes para atingir a temperatura ambiente. Aqueça rapidamente a solução SDS a 37°C para dissolver novamente o precipitado SDS. A solução pode depois ser armazenada à temperatura ambiente.
- O volume final do ensaio é 150 µL em todos os poços.
- O ensaio é realizado à temperatura ambiente.
- Não é necessário utilizar todos os poços da placa de uma vez.
- Recomenda-se que as amostras e controles sejam guardados a 4°C após o preparo para aumentar a sensibilidade e a reprodutibilidade.

Preparo dos padrões

1. Diluir 250 µL do padrão MDA (frasco nº4) com 750 µL de água para obter uma solução estoque de 125 µM. Identificar 8 tubos de vidro com as letras A-H. Adicionar a solução estoque MDA 125 µM e água ao tubos conforme o quadro abaixo:

Quadro 3 – Adição de água e concentração de MDA

TESTE	MDA (µL)	Água (µL)	Concentração MDA (µM)
A	0	1.000	0
B	5	995	0,625
C	10	990	1,25
D	20	980	2,5
E	40	960	5
F	80	920	10
G	200	800	25
H	400	600	50

2. Adicionar 100 µL da amostra e padrões a respectivos tubos de 5 mL.
3. Adicionar 100 µL da solução SDS e levar ao vórtex.
4. Adicionar 4 mL do Reagente de Cor vigorosamente na parte inferior do tubo.
5. Tampe os vidros e coloque-os em *FOAM*.

6. Coloque os vidros em água fervente. Ferva por 1 hora.
7. Após 1 hora, retire os vidros e coloque-os em banho de gelo para parar a reação. Incubar no gelo por 10 minutos.
8. Após 10 minutos, centrifugar os vidros por 10 minutos a 1.600 g a 4°C. Os vidros podem apresentar-se claros ou turvos. Turvação clareará sob aquecimento a temperatura ambiente.
9. Os vidros são estáveis à temperatura ambiente por 30 minutos.
10. Carregue 150 μL (em duplicata) de cada vidro para a placa.
11. Ler a placa em 530 - 540 nm.

Cálculo dos resultados

2. Calcular a média da absorbância de cada padrão e amostra (se tiver feito em duplicata).
3. Subtrair o valor da absorbância do Padrão A (μM) dele mesmo e todos os outros valores.
Esta é a absorbância correta.
4. *Plote* os valores da absorbância correta de cada padrão como uma função da concentração MDA.
5. Calcular os valores de MDA para cada amostra da curva-padrão.
 $\{\text{MDA } \mu\text{M}\} = \{(\text{absorbância correta}) - (y\text{-intercept})\} / \text{inclinação}.$

BIOXYTECH® ANTIOXIDANT TEST KITS

Bioxytech® GSH-420 Assay

21023

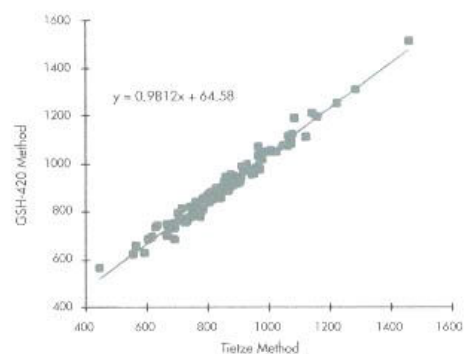
Quantitative Measurement of Total Glutathione

For Research Use Only, Not Intended For Use in Diagnostic Procedures

Catalog Number 21023

Reduced glutathione is a ubiquitous tripeptide (γ -glutamyl-cysteinylglycine) which functions as a coenzyme in amino acid transport, detoxification of xenobiotics and carcinogens, synthesis of DNA precursors and as an antioxidant. The Bioxytech® GSH-420 is the next generation of the popular GSH-400 assay for the quantitative, colorimetric determination of glutathione in biological samples. This new assay allows for measurement of "total" GSH.

The GSH-420 compares favorably with other commercially available assay methods. The figure to the right shows the correlation between the GSH-420 and the DTNB-enzyme (Glutathione Reductase) recycling assay which is used in the GSH/GSSG-412 assay from OxisResearch®. The correlation coefficient obtained by linear regression is 0.9874.



GSH-420 Method

This assay is based on the formation of a chromophoric thione. There are three major steps to the reaction:

1. Sample is buffered and the reducing reagent tris (2-carboxyethyl) phosphine (TCEP) is added to reduce any oxidized glutathione (GSSG) present in the sample.
2. The chromogen, 4-chloro-1-methyl-7-trifluoromethyl-quinolinium methylsulfate, is added to the sample forming thioethers with all thiols.
3. The pH is raised by base addition resulting in a β -elimination reaction and formation of a chromophoric thione specific to GSH.

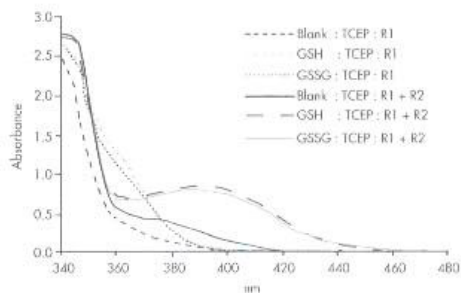
The measurement is made at 420 nm to negate the contribution by the thioether pool having peak absorbance at 356 nm. The figure below shows characteristic spectra generated after addition of base.

Improvements over existing GSH-400 assay:

- No ambiguity in "total" vs. "reduced" measurement.
- Greater specificity
- Precipitation reagent included

* Note: Omission of reducing agent allows for approximation of reduced GSH as with the existing GSH-400 assay.

U.S. Patent Number 5,817,520



References

1. Meister, A. and M.E. Anderson, (1983) *Glutathione*, Annual Review of Biochemistry, 52, 711-760.
2. Michelet, F. et al (1995), *Blood and Plasma Glutathione Measured in Healthy Subjects by HPLC: Relation to Sex, Aging, Biological Variables, and Life Habits*, Clinical Chemistry, 41(10), 1509-1517.
3. French Patent No. 9115868, United States Patent 5,817,520.
4. Burns, J.A. et al, (1991) *Selective Reduction of Disulfides by Tris(2-carboxyethyl)phosphine*, Journal of Organic Chemistry, 56, 2648-2650.
5. Richie Jr., J.P. (1996) et al, *Blood Glutathione Concentrations in a Large-Scale Human Study*, Clinical Chemistry, 42(1), 64-70.

BIOXYTECH® ANTIOXIDANT TEST KITS

21023

GSH-420 Product Summary

Intended Use:	Quantitative measurement of "total" glutathione. For Research Use Only. Not Intended For Use in Diagnostic Procedures.		
Format:	100 test calorimetric		
Kit Contents:	<ul style="list-style-type: none"> • Assay Buffer • Chromogen • Color Developer • Reducing Reagent • Precipitation Reagent • Calibrators (low and high) 		
Storage and Stability:	21 months from date of manufacture when stored in the dark at 2-4°C.		
Specimen Requirements:	Erythrocyte lysates, whole blood, tissue homogenates		
Precision:	Low	High	Blood
Mean	124.3	248.6	687.7
Intra-assay (% CV)	2.3	1.6	2.6
Inter-assay (% CV)	5.8	3.5	5.8
Total Precision (% CV)	6.0	3.7	6.1
Sensitivity:	9 µM in the sample		

GSH-420 Selected Research Applications

The GSH-420 has not been on the market as long as GSH-400, however it has already been used in a wide variety of studies.

In an animal feed supplement study, Williams et al. evaluated the safety and antioxidant potential of lipoic acid (LA), a water-soluble and fat-soluble antioxidant, in horses undergoing light voluntary pasture exercise. They tested for endogenous antioxidant status (i.e. GSH and cGPx) using the GSH-420 and cGPx-340 kits on the automated OxyScan™ Analyzer. Lipid hydroperoxides were also evaluated using the OXIS LPO-560 Assay. They showed that LA supplementation of 10 mg/kg did not result in any adverse signs/effects over a 14-day period and moderately reduced the oxidative stress of horses that were allowed light activity (1).

In a performance animal related study Hargreaves et al. tested the antioxidant status in horses during prolonged and strenuous endurance exercise (2). They showed both erythrocyte GSH and Vitamin C were decreased during exercise. Similarly cellular GPx concentration tested with the OXIS GPx-340 assay was 4-fold higher before the exercise. They showed that changes of antioxidant status such as cellular enzymatic antioxidants (e.g. cGPx) are good indicators of muscle leakage associated with muscle damages and hypo-dehydration.

In one of the more innovative uses of our GSH-420 assay Downs et al. studied oxidative stress in corals and showed that coral (Zooxanthellae) bleaching may be a final strategy to defend coral from oxidative stress (3). They showed high levels of antioxidant enzymes and heat shock proteins were negatively correlated with levels of oxidative damage products.

1. Lipoic acid as an antioxidant in mature thoroughbred geldings: A preliminary study. Williams, C.A. et al., (2002). J. Nutr. 132: 1628S-1631S
2. Antioxidant status of horses during two 80-km endurance races. Hargreaves, B.J. et al., (2002) J. Nutr. 132:1781S-1783S
3. Oxidative stress and seasonal coral bleaching. Downs, CA et al., (2002). Free Radic. Biol. Med. 33(4):533-543

BIOXYTECH[®] ANTIOXIDANT TEST KITSBioxytech[®] GSH/GSSG-412 Assay

21040

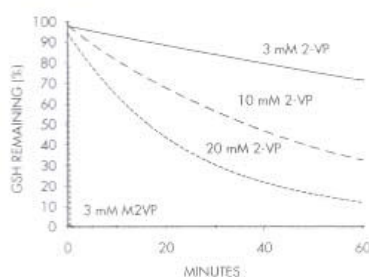
Quantitative Measurement of Total Oxidized Glutathione Ratio

For Research Use Only, Not Intended For Use in Diagnostic Procedures

Catalog Number 21040

OxisResearch[®] has developed an improved method to measure the ratio of reduced to oxidized glutathione (GSH/GSSG). This method features a more efficient mercaptan scavenger, 1-methyl-2-vinyl-pyridinium trifluoromethane-sulfonate (M2VP), to trap GSH. The figure below compares the scavenging abilities of the commonly used 2-vinylpyridine (2VP) with the OXIS M2VP reagent. One can easily see that M2VP is many times more effective in removing reduced GSH (99% within 1 minute) when compared to the 2VP reagent (11.7% within 1 minute).

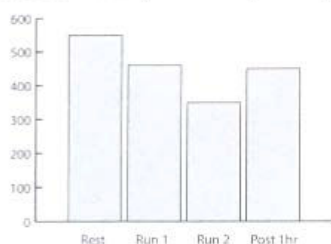
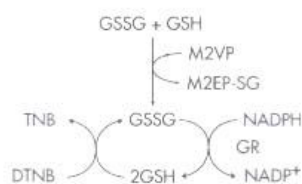
The increased scavenging capability of the OXIS M2VP reagent allows for more accurate measurement of small amounts of GSSG without overestimation.



GSH/GSSG-412 Method

The test method is based on the DTNB-GSSG reductase recycling assay for GSH first described by Tietze in 1969. The method employs glutathione reductase to ensure all GSH is in the reduced form capable of reacting with DTNB (also called Ellman's reagent) to form a spectrophotometrically detectable product at 412 nm.

The data below represents a study that was done using the OXIS GSH/GSSG-412 assay. During a segmented charity run, whole blood was sampled from healthy OXIS volunteers. Blood was collected, with and without the OXIS M2VP GSH scavenging reagent, and tested with the GSH/GSSG-412 assay. Note the decreasing ratio as subject undergoes progressively more strenuous exercise. Also note the ratio recovery after a 1 hour rest period. This data represents the utility of the GSH/GSSG-412 assay in effectively assessing oxidative stress relative to the glutathione system.



The GSH/GSSG-412 assay system contains reagents suitable for 100 tests representing the ratio of total glutathione to the oxidized form or 200 tests of either.

US Patent 5,543,298.

References

1. Tietze F (1969) Analytical Chemistry 27, 502-520.
2. Guntherberg H and Rost J (1966) Analytical Biochemistry 15, 205-210.
3. Griffith OW (1980) Analytical Biochemistry 106, 207-212.
4. Richie JP Jr., et al (1996) Clinical Chemistry 42, 64-70.
5. Anderson, M. (1996) Glutathione in Free Radicals, A Practical Approach, ed. N.A. Punchard and F.J. Kelly Oxford University Press, New York, p 213.

BIOXYTECH[®] ANTIOXIDANT TEST KITS

21040

GSH/GSSG-412 Product Summary

Intended Use:	Quantitative measurement of total glutathione (GSH plus GSSG) and/or oxidized glutathione (GSSG) alone. This assay allows for determination of the GSH/GSSG ratio. For Research Use Only. Not Intended For Use in Diagnostic Procedures.			
Format:	100 test spectrophotometric cuvette (ratio) or 200 test spectrophotometric cuvette (GSH or GSSG)			
Kit Contents:	<ul style="list-style-type: none"> • Assay Buffer • GSSG Buffer • Enzyme • NADPH • Scavenger • Chromogen • Standards 			
Storage and Stability:	12 months from date of manufacture when stored as specified			
Specimen Requirements:	Whole blood or tissue samples			
Precision:	GSSG in Buffer		Whole blood	
n=26	High	Low	GSH	GSSG
MeanRate at A ₄₁₂	0.4194	0.0427	0.2938	0.00490
Intra-assay (% CV)	0.59	3.50	0.96	6.45
Inter-assay (% CV)	2.84	2.96	3.11	7.61
Total Precision (% CV)	2.87	3.86	3.18	8.86
Sensitivity:	LLD in μM reaction mixture = 0.009			
	LLD in μM original sample = 0.54			

GSH/GSSH-412 Selected Research Applications

Our GSH assays have been and continue to be used in various research model systems including pulmonary diseases, alcoholism, fertility and cancer models. Using the GSH/GSSG-412 kit, Cavarra E et al. studied cigarette smoking associated oxidative stress on human protease enzymes (specifically anti-trypsin activity) in a mouse model of chronic obstructive pulmonary disease (COPD). They demonstrated that acute smoke exposure *in-vivo* can result in significant changes to the antioxidant capacity of bronchoalveolar lavage fluid (BAL). These changes were ascribed to depletion of many factors including the perturbation in the glutathione redox system as revealed by the increase in oxidized GSH (GSSG).

In an alcoholism and fertility study, the Emaluette group showed that when male rats were exposed to EtOH (8 wks of ethanol containing diet), there was increased paternal testicular oxidative injury demonstrated by decreased ratio of GSH/GSSG as well as enhanced lipid peroxidation (2).

In a diabetic model, Liang reported that metallothionein-transfected diabetic mice exhibit significantly lower levels of GSSG compared to the non-transfected diabetic mouse and a similar to "normal"/control mouse (3). Many diabetic patients suffer from cardiomyopathy, even in the absence of vascular disease. Therefore, these results demonstrate that cardiomyocyte-specific expression of an antioxidant protein may reduce the damage to diabetic heart.

Most recently, researchers at the National Cancer Institute (NCI), National Institutes of Health (NIH) and a German group studied the effects of G6PD activity in terms of general metabolism, regulation of oxidative stress and cancer (somatic mutagenesis) in mice. They showed that the level of "total GSH" did not change significantly in the brain tissues of G6PD deficient (G6PD⁻) mice, compared to the "wild type". However, the GSH ratio [GSH/GSSG] was significantly increased (2-3 fold) in the "deficient" mice, as was their mutation rates (G6PD = $24 - 30 \times 10^{-5}$ vs. G6PD⁻ = $6.95 \pm 1.85 \times 10^{-5}$) (4). The mutagenesis was measured by examining the mutant frequency in Lac-Z gene, the target reporter gene of mutagenesis in the shuttle vector, pUR288.

1. Human SLPI (secretory leukoprotease inhibitor) inactivation after cigarette smoke exposure in new *in vivo* model of pulmonary oxidative stress. Cavarra E., et al. (2001). *Am. J. Physiol Lung Cell Mol. Physiol* 282: L412-L417.
2. Peripubertal paternal EtOH exposure: testicular oxidative injury, fertility and offspring. Emaluette NV et al., (2001) *Endocrine* 14: 213-19.
3. Over expression of metallothionein reduces diabetic cardiomyopathy. Liang Q et al. (2002) *Diabetes* 51 (1): 174-81.
4. Moderate G6PD deficiency increase mutation rates in the brain of mice. Felix, K et al. (2002) *Free Radical Biology & Medicine* 32 (7): 663-73

ANEXO C – Ofício do Comitê de Ética

Universidade Federal do Ceará
Comitê de Ética em Pesquisa

Of. N° 382/05

Fortaleza, 24 de junho de 2005

Protocolo COMEPE n° 164/05

Pesquisador responsável: Siulmara Cristina Galera

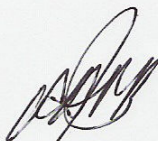
Deptº./Serviço: Hospital Universitário Walter Cantídio/UFC

Título do Projeto: “Efeitos da suplementação oral de glutamina em indivíduos de meia-idade e idosos”

Levamos ao conhecimento de V.S^a. que o Comitê de Ética em Pesquisa e do Complexo Hospitalar da Universidade Federal do Ceará – COMEPE, dentro das normas que regulamentam a pesquisa em seres humanos, do Conselho Nacional de Saúde – Ministério da Saúde, Resolução n°196 de 10 de outubro de 1996 e Resolução n° 251 de 07 de agosto de 1997, publicadas no Diário Oficial, em 16 de outubro de 1996 e 23 de setembro de 1997, respectivamente, aprovou o projeto supracitado na reunião do dia 23 de junho de 2005.

Outrossim, informamos, que o pesquisador deverá se comprometer a enviar o relatório parcial e final do referido projeto.

Atenciosamente,



Prof. Dr. Fernando A. Frota Bezerra
Coordenador Adjunto do Comitê
de Ética em Pesquisa
COMEPE/HI/WC/UFC