

RAFAELA CHRISTINA DA SILVA DE PAULA

**ASSOCIAÇÃO ENTRE ZINCO E ATIVIDADE INFLAMATÓRIA,
ATEROSCLEOSE, ARTERIOSCLEROSE E FUNÇÃO ENDOTELIAL EM
INDIVÍDUOS MUITO IDOSOS**

Brasília, 2014

RAFAELA CHRISTINA DA SILVA DE PAULA

**ASSOCIAÇÃO ENTRE ZINCO E ATIVIDADE INFLAMATÓRIA,
ATEROSCLEROSE, ARTERIOSCLEROSE E FUNÇÃO ENDOTELIAL EM
INDIVÍDUOS MUITO IDOSOS**

Dissertação apresentada ao
Programa de Pós-Graduação em
Ciências Médicas da Faculdade de
Medicina da Universidade de Brasília
para obtenção do Título de Mestre

Orientador: Prof.Dr. Andrei Carvalho Sposito

Brasília, 2014

DEDICATÓRIA

Aos meus pais, **Brasil e Sueli**, por todos os ensinamentos.
Ao meu marido, **Daniel**, pela compreensão e apoio em todos os momentos.

AGRADECIMENTOS

A **Deus** por ter orientado e abençoado o meu caminho.

Ao **Prof. Dr Andrei** pela oportunidade, confiança que com toda sua experiência, propiciou grande aprendizagem profissional e pessoal.

Aos alunos e pesquisadores que muito contribuíram para o desenvolvimento deste trabalho, **Alexandre Soares, Andre Japiassú, Vinícius Boaventura, Carolina Tzemos, Dr. Wladimir Freitas, Dr. Luiz Quaglia, Dr.^a Simone Santos.**

Às amigas **Ana Paula Rezende Costa** e **Thaís Muniz M. Sousa** por todo o apoio e conhecimento compartilhado nesta etapa.

Aos **idosos participantes** do estudo The Brazilian Study on Health Aging, que tornaram possível a realização desta pesquisa.

SUMÁRIO

Lista de Abreviaturas

Lista de Tabelas

Lista de Figuras

Resumo

Abstract

1. Introdução.....	13
2. Revisão da Literatura.....	16
2.1. Envelhecimento Populacional.....	16
2.2. DCV e envelhecimento.....	19
2.3. Doença Aterosclerótica no muito idoso.....	20
2.4. Doença aterosclerótica e Imunossenescência.....	24
2.4.1. Resposta imunológica e aterosclerose.....	24
2.4.2. Resposta Imunológica e senescência.....	29
2.5. Marcadores inflamatórios como preditores do risco cardiovascular nos idosos.....	33
2.6. Zinco e Doença Cardiovascular.....	35
2.6.1. Conceito.....	36
2.6.2. Zinco e sistema imune-inflamatório.....	38
2.6.3. Zinco e imunossenescência.....	40
2.6.4. Zinco e aterosclerose.....	42
2.7. Inquéritos Alimentares.....	46
3. Objetivos.....	49
4. Casuística e Métodos.....	50
4.1. Casuística.....	50
4.2. Delineamentos do estudo.....	52
4.3. Avaliação Experimental.....	52
4.4. Análises bioquímicas.....	52
4.5. Avaliação antropométrica.....	53
4.6. Avaliação da ingestão dietética do zinco.....	55
4.7. Avaliação da magnitude da doença aterosclerótica carotídea.....	57
4.8. Avaliação da magnitude da doença aterosclerótica coronariana.....	58

4.9. Avaliação da função endotelial Pelo Teste da Reatividade da Artéria Braquial.....	59
4.10. Métodos Estatísticos.....	60
5. Resultados.....	62
5.1 Características gerais da população estudada.....	62
5.2. Características da população estudada segundo a concentração do Zinco plasmático.....	65
5.3.Características da Doença Aterosclerótica coronariana e carotídea, da Doença Arteriosclerótica e da Função Edotelial segundo a concentração do Zinco plasmático.....	68
5.4. Análise univariada da associação entre a atividade inflamatória sistêmica medida por PCR e concentração plasmática de zinco.....	69
5.5. Análise multivariada da associação entre a atividade inflamatória sistêmica medida por PCR e concentração plasmática de zinco.....	71
5.6. Análise univariada da associação entre a ingestão de zinco e a atividade inflamatória sistêmica medida por PCR e zinco plasmático.....	72
6. Discussão.....	74
6.1. Caracterização da população estudada.....	74
6.2. Resposta inflamatória sistêmica e Zinco plasmático.....	82
6.3. Ingestão dietética de zinco e resposta inflamatória sistêmica.....	84
6.4. A doença aterosclerótica subclínica e arteriosclerose segundo a concentração do Zinco plasmático.....	86
6.5. Função Edotelial segundo a concentração do Zinco plasmático.	88
7.Limitações.....	90
8. Conclusão.....	91
9. Referências Bibliográficas.....	97
Apêndice- Questionário de Frequência Alimentar.....	102
Anexo A- Parecer de Aprovação no Comitê de Ética e Pesquisa da Secretaria de Saúde do Distrito Federal.....	108
Anexo B- Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.....	109

LISTA DE ABREVIATURAS

ANCOVA	Análise de Covariância
AVC	Acidente Vascular Cerebral
CA	Circunferência Abdominal
CAC	Calcificação Arterial Coronariana
DAC	Doença Arterial Coronariana
DC	Células Dendríticas
DCBV	Doenças Cerebrovasculares
DCV	Doenças Cardiovasculares
DCNT	Doenças Crônicas Não Transmissíveis
DFM	Dilatação Fluxo Mediada
DIC	Doenças Isquêmicas do Coração
EC	Escore de Cálcio
EROS	Espécies Reativas de Oxigênio
HAS	Hipertensão Arterial Sistêmica
HR	Hazard Ratio
HPS	Proteínas de Choque Térmico
IAM	Infarto Agudo do Miocárdio
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
ICAM-1	Moléculas de Adesão Intercelular
IFN- γ	Interferon- γ
IL-1	Interleucina-1
IL-2	Interleucina-2
IL-4	Interleucina-4
IL-6	Interleucina-6
IMC	Índice de Massa Corporal
IMT	Espessamento Medio Intimal
IP-10	Proteína-10 Induzida por Interferon- γ
LDL	Lipoproteínas de Baixa Densidade
LURIC	Ludwigshafen Risk and Cardiovascular Health
MAPK	Proteínas Cinases Ativadas por Mitógenos
MCP-1	Monocyte Chemoattractantprotein-
MESA	Multi Ethnic Study of Atherosclerosis
MHC II	Moléculas do Complexo de Histocompatibilidade da Classe II
MMP	Metaloproteinases
MT	Metalotioneína
NK	Natural Killer
OMS	Organização Mundial de Saúde
ON	Óxido Nítrico
ONU	Organização das Nações Unidas
PAD	Pressão Arterial Diastólica
PAMPS	Padrões Moleculares Associados a Patógenos
PAS	Pressão Arterial Sistólica
PCR	Proteína C Reativa
PCR-us	Proteína C Reativa ultra sensível
QFA	Questionário de Frequência Alimentar
RANTES	Normal T Cell Expressed and Secreted
RA	Registro Alimentar

RRPs	Receptores de Reconhecimento de Padrões
SOD	Superóxido Dismutase
SRS	Scavengers Receptores
R24h	Recordatório de 24 horas
TACO	Tabela Brasileira de Composição de Alimentos
TCR	Receptores das Células T
Th	Células T Auxiliares
TLRs	Receptores tipo TOLL like
TNF- α	Fator de Necrose Tumoral α
Treg	Células Reguladoras
VCAM-1	Moléculas de Adesão Vascular- 1
Zn	Zinco

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Características clínicas e antropométricas da população estudada.....	63
Tabela 2. Características metabólicas e alimentar da população estudada.....	64
Tabela 3. Características clínicas, dietéticas e antropométricas segundo o nível plasmático de zinco.....	66
Tabela 4. Características laboratoriais segundo o nível plasmático de zinco.....	67
Tabela 5. Características da doença aterosclerótica, arteriosclerótica e função endotelial segundo o nível plasmático de zinco.....	69
Tabela 6. Regressão ordinal considerando como variável dependente os tercís da PCR plasmática ($\leq 1,1$; 1,2 a 2,4 e $>2,4$ mg/L).....	72

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Estimativa da proporção de indivíduos acima de 80 anos em 2050.....	18
Figura 2. Participação do Zn na modulação do balanço entre a atividade das células T <i>helper</i> (TH1 e TH2) e na geração de uma resposta adequada a infecções	40
Figura 3. Processo de seleção dos indivíduos.....	51
Figura 4. Regressão linear (A) e não linear (B) da associação entre o zinco plasmático e a atividade inflamatória estimada pela PCR	70
Figura 5. Regressão não linear da associação entre a ingestão do zinco e a atividade inflamatória estimada pela PCR (A) e zinco plasmático (B)...	73

RESUMO

Introdução: As doenças cardiovasculares ainda são a principal causa de óbito na população idosa, com destaque em indivíduos com mais de 80 anos. A inflamação crônica e o estresse oxidativo estão presentes no desenvolvimento e progressão da aterosclerose. O zinco, um micronutriente essencial, possui propriedades anti-inflamatórias e antioxidantes, e sua deficiência pode estar relacionada com a aterogênese e arteriosclerose. **Objetivos:** avaliar a associação entre a concentração plasmática de zinco e sua ingestão dietética com a resposta inflamatória, a doença aterosclerótica, a arteriosclerose e a função endotelial em indivíduos muito idosos.

Métodos: Foram incluídos no estudo 201 participantes com 80 anos ou mais, sem manifestação clínica de doença cardiovascular. Foram excluídos os indivíduos com doença auto-imune, neoplasias atuais ou prévias, doença pulmonar obstrutiva, doença renal grave, insuficiência cardíaca, portadores de infecções atuais ou recorrentes, hepatopatas e em uso de antiinflamatórios. Os pacientes foram submetidos a questionário médico-nutricional, incluindo avaliação da ingestão de zinco por meio do uso de QFA, ultrassonografia de carótidas, avaliação da função endotelial por hiperemia reativa da artéria radial, angiotomografia coronariana e coleta de sangue para análise bioquímica, incluindo PCR e zinco plasmático.

Resultados: Não houve diferença significativa nas características clínicas e laboratoriais entre os participantes agrupados em tercís de níveis plasmáticos de zinco, exceto para os níveis de PCR ($p=0,01$) e leucócitos ($p=0,002$). A associação negativa verificada entre os níveis plasmáticos de zinco e PCR, foi mantida após o ajuste para idade, gênero, hipertensão, diabetes, taxa de filtração glomerular e uso de estatina. Não foram observadas diferenças significantes entre os tercís de zinco plasmático e DFM, IMT, CAC e frequência de placas carotídeas, placas coronarianas não calcificadas ou remodeladas ou placas coronarianas de baixa atenuação. Não houve associação significativa entre a ingestão dietética de zinco e os níveis plasmáticos desse mineral ($p=0,75$) ou a com a PCR ($p=0,76$). **Conclusão:** Em indivíduos muito idosos, a concentração plasmática de zinco associou-se negativamente com a atividade inflamatória, mas não com as alterações na estrutura ou funcionalidade da parede arterial.

Palavras chaves: zinco; inflamação; aterosclerose; arteriosclerose; disfunção endotelial.

ABSTRACT

Introduction: Cardiovascular diseases are the leading cause of death in the elderly population, especially in individuals over 80 years. Chronic inflammation and oxidative stress are present in the development and progression of atherosclerosis. Zinc is an essential micronutrient that has anti-inflammatory and antioxidant properties, which deficiency may be implicated in the atherogenesis and arteriosclerosis. **Objectives:** To verify the association between plasma zinc concentration and daily intake on inflammatory response atherosclerotic disease, arteriosclerosis and endothelial dysfunction. **Methods:** Participants (n=201) aged 80 years or more, without clinical manifestations of cardiovascular disease were included in the study. Individuals with autoimmune disease, current or previous cancer disease, obstructive lung disease, severe kidney disease, heart failure, patients with current or recurrent infections, liver disease and use of anti-inflammatory drugs were excluded. Patients underwent medical and nutritional questionnaires (including assessment of zinc intake through the use of FFQ), carotid ultrasonography, assessment of endothelial function by reactive hyperemia of the radial artery, coronary angiography and blood samples for biochemical analysis. **Results:** There was no significant difference in clinical or laboratorial data between subjects grouped according to plasma zinc tertile, except for CRP ($p=0.01$) and leukocytes ($p=0.002$). The negative association between plasma zinc and CRP persisted even after adjustment for age, gender, hypertension, diabetes, glomerular filtration rate and statin therapy. There was no significant difference between the plasma zinc tertiles on FMD, IMT, calcium score and the frequency of carotid plaques, remodeled and noncalcified coronary plaques or low-attenuation noncalcified coronary plaques. The average daily intake of zinc was not significantly associated with zinc plasma levels ($p=0.75$) or CRP levels ($p=0.76$). **Conclusion:** In very elderly subjects, the plasma zinc concentration was negatively associated with inflammatory activity, but not with changes in the structure or function of the arterial wall.

Key words: zinc; inflammation; atherosclerosis; arteriosclerosis; endothelial dysfunction.

1. INTRODUÇÃO

Globalmente, observa-se aumento progressivo da população idosa, com destaque aos indivíduos longevos (≥ 80 anos). Fenômeno observado inclusive no Brasil. A população brasileira vem envelhecendo de forma rápida desde o início da década de 60, quando a queda das taxas de fecundidade começou a alterar a estrutura etária, estreitando progressivamente a base da pirâmide populacional [1]. O número de pessoas com 60 anos ou mais, segundo as Organizações das Nações Unidas (ONU), aumentou de 8%, em 1950, para 10% em 2000, e atualmente corresponde a mais de 12% da população mundial. Quase 40% são pessoas com 80 anos e mais. Estima-se que em 2050, 21% da população terá mais de 60 anos de idade e o número de pessoas com 100 anos e em pleno vigor físico e mental será surpreendente [2].

Esse envelhecimento populacional desperta o interesse em pesquisas sobre indivíduos longevos (≥ 80 anos), em especial, por apresentarem características que determinam um fenótipo diferenciado para a manifestação de inúmeras patologias, dentre elas as doenças cardiovasculares (DCV). A idade tem um impacto significativo no risco absoluto de eventos cardiovasculares [3].

A prevalência de DCV, como complicação da aterosclerose, aumenta à medida que a idade avança, sendo essa doença a primeira causa de morbidade e mortalidade no paciente idoso, especialmente em países em desenvolvimento [3, 4].

Embora tenha sido verificada, nas últimas décadas, uma redução progressiva da mortalidade atribuível à doença arterial coronariana (DAC) em indivíduos com menos de 60 anos, a incidência absoluta da doença continua a aumentar em indivíduos com idade superior a 60 anos, levando a crer que ela ainda será, nas próximas décadas, a principal causa de morte e de incapacidade de idosos [3, 5].

O risco aumentado da doença aterosclerótica no indivíduo idoso está associado às modificações nos tradicionais mecanismos fisiopatogênicos da doença [6]. As mudanças no sistema imune e inflamatório relacionadas ao envelhecimento, definidas como imunossenescência, contribuem para esse novo modelo causal da aterosclerose no muito idoso [6]. A redução da resposta imune adquirida e a exacerbação da resposta imune inata, representada pelo aumento na produção de citocinas pró-inflamatórias e proteínas de fase aguda favorecem o desenvolvimento da doença [7].

Estratégias para prevenção e intervenção precoce da doença aterosclerótica têm sido objeto de muitas pesquisas. Dados recentes apontam para a existência de possíveis elementos reversíveis, que possam contribuir, pelo menos em parte, para uma regulação desta resposta inflamatória. Dentre os possíveis candidatos, destaca-se o zinco.

A importância de um estado nutricional adequado de micronutrientes, em especial o zinco, como fator de proteção contra aterosclerose tem sido descrito na literatura, em função de sua atividade anti-inflamatória e antioxidante [8, 9]. Além disso, esse elemento é um nutriente essencial com forte ligação ao sistema imune, o que pode torná-lo um co-fator em potencial para o desenvolvimento da imunossenescência [10].

Inflamação, estresse oxidativo e/ou disfunção endotelial causados pelos fatores de riscos tradicionais como idade, sexo, tabagismo, hipertensão diabetes e obesidade estão envolvidos no desenvolvimento e progressão da aterosclerose [11, 12]. Além disso, o envelhecimento está associado à depleção e fragmentação da elastina e à deposição do colágeno, causando o aumento do espessamento arterial e elevação da pressão arterial [6]. Estudos apontam que a deficiência de zinco aumenta a produção de citocinas pró-inflamatórias e o estresse oxidativo, além de

induzir a disfunção endotelial, com o aumento da deposição do colágeno e espessamento da parede arterial [9, 13-15].

Indivíduos idosos apresentam baixa ingestão alimentar, absorção e/ou utilização desse nutriente [16, 17], estando, portanto, mais suscetíveis aos efeitos deletérios da deficiência nutricional e das alterações biológicas peculiares do envelhecimento no desenvolvimento da aterosclerose.

Apesar de investigações emergentes quanto à associação entre os micronutrientes inorgânicos e a carga aterosclerótica, são escassos os estudos que avaliam a relação sobre a concentração e a ingestão de zinco e o desenvolvimento de doenças cardiovasculares, e tais associações permanecem inconsistentes [18, 19].

Considerando-se que as deficiências nutricionais são cada vez mais frequentes no envelhecimento e que a deficiência de zinco pode contribuir para o aumento da atividade inflamatória sistêmica, carga aterosclerótica e rigidez da parede arterial em indivíduos muito idosos, a investigação e a produção de informações científicas a respeito desse nutriente contribuem para justificar a importância desse estudo.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1. ENVELHECIMENTO POPULACIONAL

O envelhecimento populacional é hoje um fenômeno mundial, observado tanto em países desenvolvidos como, de modo crescente, em países em desenvolvimento e decorre da transição demográfica de uma população jovem para uma população idosa. Segundo a Organização Mundial de Saúde, a população idosa é aquela com idade igual ou superior a 60 anos, porém, cronologicamente há uma distinção nesta classificação, sendo dependente do desenvolvimento sócio-econômico de cada sociedade. O limite de 60 anos para a classificação de idosos é mais apropriado nos países em desenvolvimento. Já nos países desenvolvidos, adota-se o limite de 65 anos para essa classificação, tendo em vista a expectativa de vida ao nascer e a qualidade de vida nessas localidades [1].

Iniciou-se no final do século XIX em alguns países da Europa Ocidental, espalhou-se pelo resto dos países desenvolvidos no século passado, e se estendeu, nas últimas décadas, por vários países em desenvolvimento [20].

No Brasil, as modificações demográficas ocorrem de forma radical e bastante acelerada. Esta alteração deve-se principalmente a dois fatores: diminuição da fecundidade e declínio da mortalidade, que está diretamente ligado à melhoria nos parâmetros de saúde, melhores condições sanitárias e maior acesso aos serviços de saúde [20].

Entre os anos 40 e 60, a população brasileira experimentou um declínio significativo na mortalidade, com fecundidade relativamente constante. A partir da segunda metade da década de 60, a rápida e sustentada redução da fecundidade

desencadeou uma série de mudanças profundas na distribuição etária, tal como na maioria dos países da América Latina [20].

Globalmente, observou-se um declínio da taxa de fecundidade total, com diminuição de quase 50% na última metade do século, caindo de valores de 5,0 filhos para 2,7 filhos por mulher. A diminuição no ritmo de nascimento resulta, em médio prazo, no incremento proporcional da população idosa. No Brasil, o comportamento reprodutivo sofreu grande alteração, no qual a taxa de fecundidade apresentou declínio de 5,8 filhos/mulher em 1970 para 1,8 filhos/mulher em 2008, ficando abaixo do valor de reposição da população (2,1 filhos por mulher), conforme indicado na Pesquisa Nacional por Amostra de Domicílios 2006-2008 [21].

Em contrapartida, mundialmente, nas últimas cinco décadas, observou-se um aumento na esperança de vida ao nascer de quase 20 anos, *i.e.* de 46,5 anos, em 1950-1955, para 66 anos em 2000-2005 [22]. No Brasil, a expectativa de vida cresceu 14% nos últimos 20 anos, pulou de 64,7 anos em 1991 para 73,9 anos em 2010[23].

Em decorrência de todos esses fatores, observa-se um aumento importante da população geriátrica. A estimativa do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística- IBGE para o ano de 2025 equivale a 15% de idosos da população total, o que corresponde aproximadamente a 30 milhões de indivíduos, situando o Brasil como o sexto país do mundo em número de idosos [1].

Segundo a Organização das Nações Unidas (ONU), os idosos representavam, em 2005, 10,4% da população mundial, e projeções revelam que, até 2050, esse valor será superior a 20%. Paralelamente, o percentual de crianças reduzirá de 30% para 21%, no mesmo período [2].

Mudanças mais notáveis em relação à composição demográfica da população são verificadas no grupo de idosos com mais de 80 anos. Estudos têm sinalizado um

rápido aumento desta população no Brasil. Em 1980, idosos nessa faixa etária eram representados por cerca de 560 mil indivíduos; já em 2006, esta parcela da população aumentou para quase dois milhões de habitantes [24]. Projeções oficiais para 2050 apontam uma população de idosos acima de 80 anos de 13 milhões de indivíduos e maior número de mulheres entre os idosos [25], conforme figura 1.

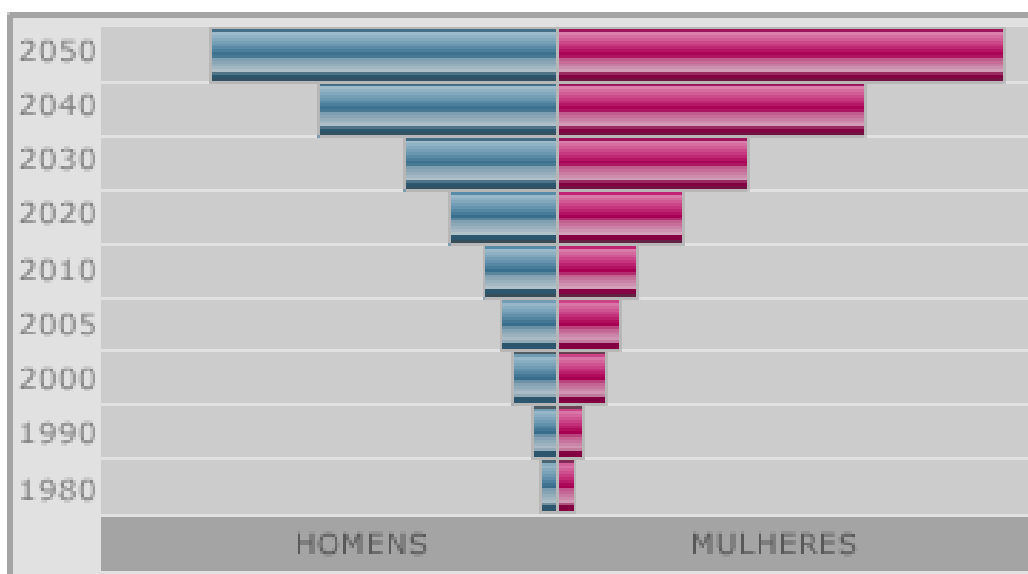


Figura 1 – Estimativa da proporção de indivíduos acima de 80 anos em 2050

Fonte: www.ibge.gov.br/home/estatistica/populacao/projecao

O aumento na esperança de vida ao nascer reflete atualmente não só o aumento do número de idosos, bem como uma maior sobrevivência. Globalmente nos próximos 50 anos a expectativa de vida na idade de 60 anos irá aumentar de 18,8 anos em 2000-2005 para 22,2 anos em 2045-2050 (18%). Entre os octogenários um aumento dos atuais 7,2 para 8,8 anos, representando uma elevação de 22% [26].

2.2 – DCV e envelhecimento

O envelhecimento populacional característico da transição demográfica altera fundamentalmente o panorama epidemiológico relativo à morbidade e mortalidade de uma determinada população. As doenças infectocontagiosas altamente prevalentes em populações jovens tendem a diminuir sua incidência, enquanto as doenças crônicas não transmissíveis (DCNTs), tais como, as cardiovasculares, diabetes, obesidade, osteoporose e neoplasias, aumentam sua prevalência, com o segmento de idosos sendo o mais afetado [27].

As DCNTs constituem a principal causa de morbidade, incapacidade e mortalidade da população idosa, em todo mundo, em especial em países em desenvolvimento, como o Brasil. Dentre as DCNT que mais acometem a população idosa destacam-se as doenças cardiovasculares (DCV). Mundialmente a DCV é a principal causa de morte entre as pessoas com mais de 60 anos e a segunda causa entre os indivíduos na faixa etária de 15 a 59 anos [28]. Apesar da tendência de redução dos riscos de mortalidade por DCV no país e no mundo, projeções oficiais para 2020 indicam o aumento de sua importância relativa em países em desenvolvimento, sendo que 34% de todos os óbitos serão devidos às DCV [29].

A maior longevidade, associada ao possível aumento da incidência das DCV por adoção dos modos de vida com maior exposição a fatores de risco, são consideradas as principais razões deste incremento [30].

A idade tem sido considerada fator independente para DVC. Sua incidência e prevalência aumentam proporcionalmente com o avanço da faixa etária. Na população americana, mais de 80% das mortes por doenças cardiovasculares ocorreram em indivíduos com 65 anos ou mais [31, 32]. A prevalência da doença cardiovascular, incluindo: hipertensão arterial, doença coronariana, insuficiência

cardíaca e acidente vascular encefálico, é de aproximadamente 40% em indivíduos entre 40 a 59 anos, 70 a 75% entre indivíduos de 60 a 79 anos e ultrapassa 80% de prevalência entre indivíduos acima de 80 anos [3, 33].

As doenças isquêmicas do coração (DIC), somadas às doenças cerebrovasculares (DCBV), representam mais de 60% dos óbitos por DCV no Brasil. Dados recentes do DATASUS (2011) revelam que as doenças circulatórias são a principal causa de morte entre os idosos brasileiros, representando aproximadamente 33,5% da mortalidade proporcional por grupo de causas em indivíduos com mais de 80 anos, sendo 26% representadas por doenças isquêmicas do coração [34].

Dentre as DCV, destaca-se o Infarto Agudo do Miocárdio (IAM), em função do aumento da incidência em indivíduos com idade mais avançada. A incidência de IAM entre indivíduos na faixa de 65 a 74 anos é dez vezes maior do que entre indivíduos de 35 a 44 anos. E o aumento da incidência de IAM continua em idades mais avançadas, de modo que a incidência de IAM em indivíduos acima de 80 anos é duas a três vezes maiores que a incidência entre indivíduos entre 65 a 79 anos [3].

2.3. Doença Aterosclerótica no muito idoso

A aterosclerose é uma doença inflamatória crônica, multifatorial, lenta e progressiva, resultante de uma série de respostas celulares e moleculares à agressão endotelial, acometendo principalmente a camada íntima das artérias de médio e grande calibre [35]. Tais lesões podem aumentar de tamanho, ocasionando a oclusão das artérias e em consequência, o IAM.

Embora estudos apontem que a aterosclerose é uma doença que se inicia no período gestacional e progride continuamente durante todas as fases da vida, é na fase adulta e em especial na velhice que se observam sua manifestação [35, 36].

Histologicamente, a doença é representada por ateromas ou lesões ateroscleróticas que formam espessamentos assimétricos na camada íntima arterial, formadas por um núcleo acelular de lipídios e substâncias necróticas, circundado por células espumosas (representadas por macrófagos) e, mais externamente, por uma capa fibrosa composta de fibras musculares lisas e de tecido conjuntivo fibroso. Pode haver ainda infiltrado inflamatório linfocitário e deposição de cálcio [35, 37].

Inúmeras hipóteses para a formação da aterosclerose têm sido propostas. E uma dessas hipóteses reside na sequência de eventos desencadeados pela reposta à injúria endotelial e hiperlipidemia. Há evidências de que níveis elevados de colesterol alteram a proporção de lipídios na membrana plasmática das células endoteliais. Ocorre aumento da viscosidade e diminuição da fluidez destas, tornando-as mais vulneráveis ao trauma provocado pelas alterações do fluxo sanguíneo, predispondo ao desenvolvimento de lesões endoteliais [35].

Tais lesões citadas acima ocasionam o aumento da permeabilidade endotelial que é acompanhado diretamente pelo aumento da adesão de leucócitos e alteração na expressão de genes próprios das células endoteliais. Esses genes são responsáveis pela expressão de citocinas quimiotáticas, tais como as moléculas de adesão vascular (VCAM-1), adesão intercelular (ICAM-1), a E-selectina, a "*monocyte chemoattractant protein-1*" (MCP-1), a proteína "*regulated on activation, normal T cell expressed and secreted*" (RANTES), a proteína-10 induzida por interferon- γ (IP-10) e a fractalina. Elas são expressas no lume do vaso, mediando a adesão de monócitos e linfócitos T circulantes às placas [35].

A fase inicial das lesões ateroscleróticas tem a participação tanto de monócitos quanto de células T. De fato, muitas das moléculas de adesão e quimiocinas que promovem o recrutamento de monócitos também estimulam as células T a migrarem para a região afetada. Os linfócitos T após interagir com células dendríticas (DC) e ou macrófagos especializados na apresentação de antígenos iniciam a resposta imunológica celular. Os linfócitos T predominantes na aterogênese secretam interferon- γ (IFN- γ), fator de necrose tumoral α (TNF- α), entre outras citocinas [35].

Os monócitos se diferenciam em macrófagos, os quais podem proliferar e acumular colesterol e ésteres de colesterol submetidos constantemente a um ciclo de hidrólise e reesterificação, originando as chamadas células espumosas. Essas células possuem grande capacidade de captar e degradar lipoproteínas modificadas, promovendo sua oxidação e gerando produtos com alta capacidade oxidativa e de lesão tecidual [38]. Uma das alterações mais importantes, desencadeadoras da lesão, é a oxidação lipídica como resultado da exposição a resíduos oxidativos das células vasculares [35].

O pré-requisito para a fagocitose pelos macrófagos e para o acúmulo intracelular de colesterol é oxidação de LDL. O início deste processo é induzido pela modificação oxidativa dos lipídios por radicais livres e espécies reativas de oxigênio (EROS), a qual é rapidamente captada por macrófagos através de receptores chamados de varredura. Esses receptores não são os mesmos para a molécula nativa de LDL e caracterizam-se por serem os principais responsáveis pela formação das células espumosas. Além disso, a LDLox é quimiotática para monócitos circulantes; aumenta a adesão dos monócitos através da tradução das moléculas endoteliais de adesão; inibe a mobilidade dos macrófagos, favorecendo o recrutamento e a sua retenção em placas; estimula a liberação de fatores de

crescimento e citocinas; é citotóxica para células endoteliais e células musculares lisas e por fim, é imunogênica, levando à produção de anticorpos contra a LDLox [37].

O estresse oxidativo também ativa o NF- κ B (fator de proliferação celular), assim como a produção de proteínas como as citadas anteriormente (molécula de adesão intercelular – 1 e molécula de adesão vascular – 1)[35].

Os macrófagos também produzem interleucina-1 (IL-1) e TNF- α , responsáveis por aumentar a adesão de outros leucócitos, migração e proliferação de células musculares lisas da camada média arterial. Produz a matriz extracelular, que formará parte da capa fibrosa da placa aterosclerótica madura[35]. São responsáveis também pela produção de grandes quantidades de interleucina-1 (IL-6), que estimulará a síntese de proteínas inflamatórias de fase aguda como, proteína C-reativa (PCR) e fibrinogênio [35]

As espécies tóxicas de oxigênio, que também causam a oxidação da LDL ainda induzem a produção de fatores de crescimento que podem contribuir para a proliferação das células musculares lisas da camada média vascular. Essas migram para a íntima, onde proliferam e tornam-se aptas a internalizarem lipídios, transformando-se em células espumosas. As células musculares lisas, assim como os macrófagos, apresentam receptores de varredura de alta afinidade para apoproteínas B presentes na superfície das lipoproteínas, levando, então, ao acúmulo de lipídios [35, 37].

Todos esses fatores levam ao agrupamento de células espumosas nas camadas íntima e média, resultando na visualização macroscópica das estrias gordurosas (*fatty streaks*), características de lesões ateroscleróticas. O próprio dano endotelial, por sua vez, pode ocasionar a exposição do tecido subendotelial a

concentrações aumentadas de constituintes do plasma que facilitam a adesão de plaquetas [35].

A aterosclerose é consequência da resposta à injúria endotelial desencadeada pela LDL modificada pela oxidação (LDL-oxidada), bem como pela resposta inflamatória na parede do vaso. Logo a inflamação parece participar de todos os processos de evolução. Vários marcadores inflamatórios estão descritos no processo de aterosclerose, como citocinas, interleucinas e proteínas de fase aguda, dentre elas a PCR [35].

Do ponto de vista morfológico, a doença aterosclerótica modifica-se com o avançar da idade. As placas ateroscleróticas se tornam mais abundantes e mais instáveis, à medida que se observa uma redução das células musculares lisas e um aumento na resposta inflamatória [39]. Tais características peculiares, dentre elas, as alterações imuno-inflamatórias, determinam uma alteração no fenótipo da doença aterosclerótica no idoso.

2.4. Doença aterosclerótica e Imunossenescência

2.4.1. Resposta imunológica e aterosclerose

A imunossenescência é caracterizada por alterações quantitativas e/ou qualitativas de componentes celulares e moleculares, os quais levam a um estado de inadequada atividade do sistema imunológico. Tal fato propicia uma maior suscetibilidade a infecções, menor resposta a imunizações, maior índice de fenômenos auto-imunes, neoplásicos e degenerativos, entre eles a doença aterosclerótica, quando comparados a indivíduos mais jovens [7, 40].

A imunossenescência é evidenciada pela disfunção na resposta celular e humoral. As alterações evidenciadas nesse processo não ocorrem uniformemente, logo alguns componentes celulares da resposta imune permanecem preservados [41] enquanto outros se encontram estimulados (citocinas pró-inflamatórias produzidas por macrófagos) [42].

Conseqüentemente, muitos autores sugerem que o termo imunossenescência poderia ser substituído por “senescent immune remodeling”, como melhor descritor da plasticidade do sistema imune no envelhecimento [43].

Didaticamente o sistema imune é dividido em sistema imune inato e adaptativo. Ambos estão envolvidos no processo fisiopatogênico da aterosclerose [44].

O sistema inato funciona como uma primeira linha de defesa e é constituído por diversos componentes. Primeiramente pelas barreiras físicas, como a epitelial e as secreções corpóreas. Ultrapassadas tais barreiras, os patógenos encontram células e moléculas que podem, ainda, destruí-los. Atuam, então, outros mecanismos celulares – mediados por macrófagos, neutrófilos, células dendríticas e células NK (natural killer), por exemplo – e moleculares – compostos pelo sistema complemento, PCR (proteína C reativa), dentre outros [45].

Células do sistema imune inato detectam padrões moleculares associados a patógenos (PAMPS) que se conservam nos processos evolutivos dos micro-organismos tão diversos como bactérias gram-positivas e negativas, vírus, fungos e protozoários. Estas moléculas (os PAMPS) são reconhecidas por determinados tipos celulares que codificam receptores denominados de receptores de reconhecimento de padrões (RRPs) [45].

Inúmeras evidências sustentam o envolvimento inicial de monócitos/macrófagos durante o processo aterosclerótico. Estes participam da

retenção lipídica, produção de citocinas pró-inflamatórias e expressão de diversos RRP, sendo os mais relevantes no processo aterosclerótico os receptores scavengers (SRS) e os receptores tipo TOLL like (TLRs) [44, 46-49].

Os SRs estão envolvidos no reconhecimento e no clearance de padrões moleculares associados a patógenos (PAMPs), entre eles os diferentes epítomos de LDL - modificados. Entre os vários SRs, os subtipos LOX-1 e CD36 têm sido considerados os receptores mais importantes na captação de LDL oxidado pelos macrófagos. Embora a definição do papel dos SR no processo de aterogênese ainda deva ser mais estudado [46].

Enquanto os TLRs são responsáveis pela transmissão de sinais transmembrana que ativam as vias NF κ B e a via de proteínas cinases ativadas por mitógenos (MAPK) que culminam na expressão de genes produtores de mediadores inflamatórios e espécies reativas de oxigênio [42, 47].

O papel dos TLRs na aterosclerose foi sugerido quando se demonstrou que células endoteliais de artérias normais apresentavam baixos níveis de expressão de TLRs e que em artérias doentes os níveis de expressão de TLRs estavam aumentados, principalmente a expressão de TLR2 e TLR4 nas células endoteliais e em macrófagos [46].

Outro modelo fisiopatogênico reconhecido recentemente envolve a heterogeneidade dos monócitos. Evidências de estudos em modelos animais e humanos sugerem que a hiperlipidemia desencadeia um aumento no conteúdo inflamatório dos monócitos. Esses monócitos pró-inflamatórios migram para as lesões ateroscleróticas, onde propagam a resposta imune inata por meio da expressão de citocinas pró-inflamatórias e ativação de outros mediadores, dentre eles as metaloproteinases da matriz extracelular [44].

O sistema adaptativo é a segunda linha de defesa imune, a qual envolve interações entre receptores celulares de linfócitos T, B e anticorpos com estruturas antigênicas presentes em patógenos e células. Uma vez que células T reconhecem os antígenos apresentados, estes iniciam a resposta adaptativa precisamente contra estes antígenos. Essa resposta inclui a ativação de linfócitos citotóxicos contra a célula portadora do antígeno, bem como a ativação de células B para produção de anticorpos contra os antígenos e a potencialização da resposta imunológica inata por meio da produção de citocinas [45, 47, 50].

A imunidade celular é mediada, principalmente por linfócitos T, divididos em duas sub-populações: as que apresentam o marcador CD4 e possuem a função de auxiliar nas respostas imunes e as que expressam o marcador CD8 e destroem células-alvo e, nela, há pouca participação de anticorpos [44].

Os linfócitos T reconhecem fragmentos antigênicos, presentes em complexos, localizados na superfície de células apresentadoras de antígenos. A partir daí, há desenvolvimento de uma resposta imune específica para aquele antígeno. Tal resposta é regulada por inúmeros fatores, incluindo citocinas, quimiocinas e a presença do próprio antígeno [47, 49].

Várias evidências científicas sugerem um papel regulatório da imunidade adaptativa no processo aterosclerótico, estando presente nas fases iniciais de desenvolvimento da doença [44, 49].

As fases iniciais das lesões ateroscleróticas têm a participação tanto de monócitos quanto de células T. De fato muitas das moléculas de adesão e quimiocinas que promovem a adesão e o recrutamento de monócitos também estimulam as células T a migrarem para a região afetada. Estudos clínicos revelam uma concentração abundante de células T em lesões ateroscleróticas. As células T reconhecem os antígenos apresentados pelas células dendríticas encontradas nas

placas ateroscleróticas iniciando a resposta adaptativa a esses antígenos. Em placas humanas avançadas as células T constituem aproximadamente 10% a 20% da população celular [44, 47, 49].

Os clones das células T que reconhecem esses antígenos proliferam e ampliam a resposta imune. Os antígenos que estimulam as células T no contexto da aterosclerose incluem proteínas de choque térmico (HSP), componentes de lipoproteínas plasmáticas e estruturas microbianas [44, 47].

Após a estimulação antigênica, as células T passam a ser chamadas de células T auxiliares (Th), que se diferenciam em dois subgrupos conhecidos com Th1 e Th2. A resposta mediada pelas células Th1 amplia a atividade inflamatória por meio da secreção de citocinas, dentre elas interferon γ (IFN- γ), agravando a lesão aterosclerótica, assim como um novo subgrupo estudado, as células Th17. Já as células Th2 produzem citocinas pró-inflamatórias, particularmente a interleucina-4 (IL-4), que promove a resposta humoral, no entanto sua atuação no processo aterosclerótico permanece controversa [11, 44].

Outro subtipo de células T conhecido como células reguladoras (Treg) parece exercer um papel na aterosclerose. As células reguladoras podem atenuar a resposta inflamatória. Estudos em animais nos quais são induzidas disfunções das células Treg promovem um aumento das lesões ateroscleróticas [11, 44].

A imunidade humoral na aterosclerose é mediada via linfócitos B, que secretam anticorpos capazes de reconhecer diversas estruturas. Estudos experimentais sugerem que a resposta humoral pode atenuar a aterogênese. Como por exemplo, em estudos com ratos hipercolesterolêmicos os quais apresentaram uma intensa resposta humoral contra epítopos de LDL oxidado, levando a uma diminuição da lesão aterosclerótica [11, 44].

No entanto, o processo de envelhecimento imunológico pode desencadear diferentes mecanismos na gênese e incidência da aterosclerose, ainda que seu mecanismo não esteja bem elucidado. Estudos clínicos e epidemiológicos demonstram que a imunossenescência contribui para o desenvolvimento da aterosclerose [51].

2.4.2 Resposta Imunológica e senescência

A imunossenescência é evidenciada pela disfunção de ambos os mecanismos de defesa imunológica: imunidade inata e adaptativa. No entanto, tal alteração ocorre de maneira distinta. A imunidade inata encontra-se aparentemente preservada ou até mesmo hiperativada, enquanto a imunidade adaptativa, responsável pelo reconhecimento celular de antígenos específicos, é influenciada negativamente, com redução de sua atividade [50, 52, 53].

Do ponto de vista celular, há uma diminuição em números absolutos de células B, células T auxiliares CD4+ e linfócitos T CD8 +, com um relativo aumento de células NK, logo a contagem linfocitária total não sofre alteração com o envelhecimento [52, 53]

Envelhecimento e imunidade inata

O efeito da imunossenescência no sistema inato apresenta-se de forma complexa e divergente. Evidências recentes mostram que mudanças nas células mielóides progenitoras resultam em uma redução na circulação de monócitos, bem como na circulação de células dendríticas [54]. Embora outros estudos apontem apenas redução nas suas atividades funcionais [55].

Os neutrófilos constituem a primeira defesa rápida contra infecções e lesões teciduais. Tem sido sugerido que inúmeras funções desencadeadas pelos neutrófilos encontram-se reduzidas no envelhecimento, incluindo as funções fagocitárias, quimiotáticas e de morte celular via produção de radicais livres, embora o número dessas células não seja alterado durante a senescência [56].

O sistema monócito/macrófago também possui importante papel na resposta imunológica inata. Essas células desempenham importantes funções contra agentes invasores, desenvolvendo a ligação com o sistema imune adaptativo por meio de sua atuação como células apresentadoras de antígenos[56]. A atividade bactericida está relacionada à capacidade de produção de intermediários reativos de nitrogênio e oxigênio. A produção destes intermediários é induzida pelo IFN- γ de células T e Natural Killer (NK) ou por componentes da parede celular de bactérias [56, 57].

A grande maioria dos estudos sobre a disfunção das atividades dos macrófagos no envelhecimento foi realizada em modelos animais, avaliando a redução da atividade fagocitária. Entretanto, os poucos trabalhos desenvolvidos em humanos também sugerem a mesma tendência. Está bem estabelecido que em idosos saudáveis haja uma redução na atividade fagocitária, bem como na produção de ânions superóxidos e óxido nítrico. Além disso, há uma diminuição na apresentação de antígenos por parte dos macrófagos, possivelmente pela redução na expressão de moléculas do complexo de histocompatibilidade da classe II (MHC II) [56].

Outra disfunção do sistema monócito/macrófago relacionada com a idade inclui a alteração no funcionamento e expressão dos receptores de membrana do tipo TLRs. Estas alterações são de especial importância na compreensão da imunossenescência no contexto da aterosclerose. A expressão nos monócitos dos

receptores do tipo TRL1 e TRL2 aumentam com a idade, enquanto há uma redução na função dos receptores do tipo TRL 4 e TRL 8[56].

As células NK representam 10-15% dos linfócitos sanguíneos, são componentes chaves da resposta inata e atuam de maneira importante no reconhecimento e destruição de células cancerígenas e virais. Em indivíduos idosos há um aumento da porcentagem e do número absoluto de células NK. Paralelamente, observa-se uma redução na atividade citotóxica dessas células, com a diminuição da produção de INF- γ induzido por IL2 e de outras quimiocinas via IL2 e IL12 [43, 56, 57].

As células dendríticas (DC) são as principais apresentadoras de antígenos e classificadas em dois subtipos: DC mielóides e DC plasmocitóides. As células plasmocitóides são importantes na produção de interferon tipo I e nas respostas virais. Além disso, participam da ativação de células NK e da apresentação de antígenos às células CD4 e CD8. Já as células mielóides expressam uma grande variedade de TLRs e facilitam a resposta adaptativa por meio da produção de IL-12, essencial na indução da resposta das células TH1[56, 57].

Estudos referentes à influência do processo de envelhecimento na frequência e atividade das células DC possuem diferentes conclusões. Dados atuais demonstram um aumento ou não modificação do número de DC mielóides relacionada à idade. Enquanto o número de DC plasmocitóides está diminuído ou inalterado com a idade [43, 56, 58].

Envelhecimento e imunidade adaptativa

A imunossenescência provoca alterações significativas na resposta imune adaptativa. Tanto a resposta imune celular (células T) bem como a resposta humoral (células B) encontram-se prejudicadas. Porém o declínio na função dos linfócitos T é reconhecido como o defeito principal observado no envelhecimento [54].

As alterações das células T relacionadas com a idade envolvem não só sua maturação no timo, como também sua multiplicação, diferenciação e função no tecido linfóide periférico. A involução crônica do timo é a principal causa de diminuição da resposta imune durante o envelhecimento. Como consequência o número de células T virgens maturadas no timo diminui e por sua vez reduz a diversidade dos receptores das células T (TCR). Além disso, observa-se uma diminuição da produção de IL2 pelas células T virgens e uma redução na expansão e diferenciação em células efetoras, levando a um aumento na proporção de células T de memória CD4 e CD8. Células T CD4 + possuem menor expressão de fatores co-estimuladores como CD40 que interferem na ativação de células B. Em conjunto, estas alterações podem levar a uma menor resposta efetiva a novos antígenos [43, 54, 59].

Em um estudo recente de coorte multi-étnico de Aterosclerose (MESA), foi demonstrado uma associação positiva entre maior circulação de células T CD4 de memória e menor circulação de células T CD virgens em diferentes níveis sub-clínicos de aterosclerose [60].

A resposta humoral mediada por células B também sofre influência pela idade. Há uma diminuição na frequência e no número absoluto de linfócitos pro-B na medula óssea, acompanhado de uma redução em sua diferenciação em linfócitos pré-B, promovendo uma alteração no pool de células B. Apesar do número de células B periféricas manter-se constante durante o envelhecimento, o equilíbrio entre as células B de memória e virgens encontra-se alterado. Há um acúmulo de células B de memória em detrimento ao número de células B virgens. O número aumentado de células B de memória diminui a resposta humoral a novos antígenos [43].

As alterações funcionais descritas resultam em uma desregulação da resposta imune, sendo em parte responsável pela diminuição da função imune e aumento da atividade inflamatória em idosos [61].

2.5 Marcadores inflamatórios como preditores do risco cardiovascular nos idosos

A inflamação é um processo de reparação de tecidos em resposta a agentes agressores internos e externos. No entanto, um estado inflamatório crônico pode ocasionar consequências deletérias [62].

No envelhecimento, os níveis basais de proteínas de fase aguda e de citocinas pró-inflamatórias estão aumentados, resultando em um estado inflamatório crônico, denominado inflamm-aging [42, 62, 63].

Esse estado inflamatório descrito acima é considerado uma das consequências mais marcantes da imunossenescência, por se acreditar na sua associação às principais doenças ligadas ao envelhecimento que tenham como componente a inflamação, dentre elas a doença aterosclerótica [64].

Em idosos, estudos clínicos e epidemiológicos apontam um aumento na produção de proteínas de fase aguda e citocinas inflamatórias, dentre elas fibrinogênio, IL-6, TNF- α , PCR, estando fortemente ligadas à gênese da aterosclerose, em função da existência de variados mecanismos, dentre eles a ativação endotelial e plaquetária. E ainda desempenham importante papel como marcadores inflamatórios preditores de risco cardiovascular [62].

A PCR é uma proteína de fase aguda, predominantemente, produzida no fígado e tecido adiposo em resposta a um estresse inflamatório, infecção ou lesão tecidual. Sua produção também ocorre nas lesões ateroscleróticas por células

musculares lisas e macrófagos, rins, neurônios, alvéolos pulmonares adiposo. É regulada pela IL-6, IL-1 e outras citocinas. [65-67].

Estudos prospectivos indicam que níveis de PCR discretamente elevados estão presentes entre os indivíduos com angina estável e instável em risco para IAM, idosos em risco para DAC sintomática, fumantes e homens de meia-idade, aparentemente saudáveis com risco para IAM ou AVC [66, 68].

Por meio do desenvolvimento de técnicas com sensibilidade aumentada, surgiu o ensaio de PCR ultrasensível, que detecta níveis de PCR muito baixos, demonstrando servir como um forte preditor de eventos cardíacos futuros, mesmo em pacientes com resultados negativos de troponinas cardíacas [69].

Em uma grande meta-análise publicada, a PCR- ultra sensível (PCR-us) mostrou-se como um preditor independente para grandes desfechos vasculares, com magnitude semelhante a outros marcadores como, por exemplo, a pressão arterial sistólica (PAS). Após o ajuste para possíveis fatores de confusão, a cada aumento de um desvio-padrão da PCR-us, o *hazard ratio* (HR) encontrado para eventos coronarianos foi de 1,37 (IC 95%: 1,27-1,48), enquanto para PAS, o HR foi de 1,33 (IC 95%: 1,23-1,45) [70].

Estudos *in vitro* e em modelos animais sugerem um papel pró-aterogênico da PCR. Dentre alguns mecanismos elucidados, destaca-se a ação da PCR na redução da expressão da proteína referente ao RNA mensageiro da enzima óxido-nítrico sintetase. Por outro lado, há ainda inúmeros estudos controversos com relação a esse papel causal da PCR na patogênese da doença aterosclerótica [67].

Apesar de se mostrar muitas vezes inconsistente na população em geral [71, 72], o valor preditivo da PCR em idosos tem se apresentado de forma positiva [73, 74].

Cushman e cols. avaliaram os níveis de PCR em 3.971 idosos, sem doença cardiovascular prévia. Os pacientes foram acompanhados por 10 anos. Após o ajuste para fatores de confusão, a razão de risco (RR) de DAC foi de 1,45 (IC de 95%, 1,14-1,86), quando se comparou o grupo que possuía PCR > 3 mg/L com o que possuía < 1,0 mg/L e o risco atribuível da população com níveis aumentados de PCR foi de 11%. O estudo demonstrou que a PCR foi associada com maior risco de DAC em 10 anos tanto em homens como em mulheres idosas, independente de outros fatores de risco. Uma única medida da PCR ofereceu informações adicionais de risco, especialmente para homens com pontuação intermediária e mulheres com pontuação alta no Escore de Risco de Framingham [73].

Em um trabalho publicado recentemente com muito idosos, originário do estudo prospectivo em andamento *The Brazilian Study on Healthy Aging*, verificou-se uma associação independente entre PCR e carga aterosclerótica. Foram avaliados 208 pacientes assintomáticos, sem evidência de doença crônica inflamatória e uso de anti-inflamatórios. Pacientes que apresentaram maiores valores de PCR apresentaram também maiores frequências de escore de cálcio \geq 100 em comparação aos demais (71 vs 50 %, $p = 0.001$). A associação entre PCR e escore de cálcio persistiu mesmo após o ajuste para idade, sexo, principais fatores de risco de doenças cardiovasculares e uso de estatinas [74].

2.6. Zinco e Doença Cardiovascular

Inúmeros estudos têm demonstrado uma associação significativa entre o consumo de micronutrientes e o desenvolvimento de DCV [9, 75-77]. O consumo de alimentos fonte de micronutrientes antioxidantes, dentre eles os elementos traços,

estão associados a uma diminuição na concentração de marcadores inflamatórios, relacionado ao desenvolvimento e progressão dessa condição [78].

Em muitos idosos, inúmeros estudos longitudinais têm demonstrado que indivíduos com um envelhecimento bem sucedido são aquelas com o consumo adequado de macronutrientes (carboidrato, proteína e lipídios) e de micronutrientes (vitaminas, minerais e elementos traços). Uma adequação de elementos traços celulares ocasionam um bom desempenho da função imune, compensação metabólica e preservação ao estresse oxidativo [8].

Os elementos traços, com destaque o zinco, desempenham papel importante nas funções imune, regulatórias e antioxidantes, por serem componentes ou cofatores enzimáticos essenciais de inúmeros processos metabólicos. A importância do zinco tem sido reconhecida por sua variada função bioquímica e fisiológica na resposta ao estresse oxidativo e eficiência imunológica [8, 9].

A deficiência nutricional de zinco, comum em idosos [79], está associada a inúmeras doenças crônicas que apresentem os componentes inflamatórios e estresse oxidativo como fatores desencadeantes, dentre elas a doença aterosclerótica [9]. Estudos apontam que a deficiência de zinco aumenta a concentração de citocinas inflamatórias e o estresse oxidativo, além de induzir a apoptose e disfunção de células endoteliais [80].

2.6.1 Conceito

O zinco foi estabelecido como elemento traço essencial em 1961, acompanhado da descoberta de sua deficiência em humanos. É um dos mais abundantes componentes celulares e está presente em inúmeros processos fisiológicos. É constituinte integral de proteínas ou cofator enzimático em mais de 300 reações bioquímicas, muitas delas vitais para o funcionamento normal do

organismo. Além disso, tem participação em importantes funções biológicas, dentre elas reações enzimáticas, regulação da expressão genética, estabilização de membranas celulares, contribuindo para a proteção celular e prevenção da peroxidação lipídica [81].

Por não ser armazenado no organismo, o seu consumo alimentar contínuo é essencial. A recomendação diária de ingestão desse nutriente é de 3 mg/dia para crianças de até 1 ano de idade , 5mg/dia para crianças maiores, 8mg/dia para adolescentes e adultos, 8-11mg/dia para idosos e 11-13mg/dia para gestantes e lactantes [82] . As principais fontes alimentares de zinco são carne vermelha e outras fontes de proteína animal, que não só tem elevada quantidade desse nutriente, como também de componentes que facilitam a absorção desse mineral. Outras fontes alimentares de zinco são produtos lácteos, frutos do mar, cereais integrais e castanhas [82].

Dietas pobres em proteína animal contribuem para um aumento da incidência de deficiência desse nutriente. A deficiência de zinco é frequentemente observada em idosos, bem como em estado inflamatório crônico e outras doenças relacionadas ao envelhecimento [83, 84]. O padrão alimentar característico da população idosa é composto por baixa presença de carnes e outros alimentos fontes de zinco em função de restrições alimentares para controle de hipercolesterolemia e outras doenças crônico não transmissíveis. Além disso, é observado um maior consumo de produtos refinados, os quais apresentam depleção desse nutriente durante o processo de fabricação [79, 82].

2.6.2. Zinco e sistema imune-inflamatório

Em humanos, mecanismos homeostáticos mantêm o zinco plasmático em uma concentração variável entre 70- 120 µg/dL. Um aumento na concentração de zinco disponível induz a síntese de tioneína, por meio da ação do zinco sobre os fatores de transcrição zinco-dependentes, formando a metalotioneína (MT). Na presença de baixas concentrações de zinco na célula, esse elemento é liberado da MT [85].

A resposta à fase aguda ao estresse, trauma e infecção leva a um declínio rápido e transitório na concentração plasmática de zinco como resultado à redistribuição intracelular desse metal. Em decorrência a um suporte adicional para síntese de proteínas, neutralização de espécies reativas de oxigênio e prevenção da invasão por micro-organismos [85].

A redistribuição de zinco em estados inflamatórios parece ser mediada parcialmente por citocinas. Nessas situações há um rápido declínio na concentração de zinco, precedido por aumentos nos níveis de TNF- α e IL-6 [85].

O zinco tem participação em inúmeros aspectos do sistema imune. É crucial para o desenvolvimento e funcionamento de células mediadoras do sistema imune inato, macrófagos, neutrófilos e células NK [13]. O processo de fagocitose, morte celular e produção de citocinas também são afetados pela deficiência desse nutriente, assim como o desempenho dos linfócitos T e células B. Isso ocorre em função da desregulação das funções biológicas básicas celulares. Níveis adequados de zinco são necessários na síntese de DNA, transcrição do RNA, divisão e ativação celular. Além disso, a apoptose é potencializada na deficiência desse nutriente. Sua atuação como anti-oxidante e estabilizador de membranas sugerem seu papel na prevenção de injúria induzidas por radicais livres durante os processos inflamatórios [8, 86].

Inúmeros estudos *in vitro* têm avaliado a produção de citocinas inflamatórias em resposta à depleção ou suplementação de zinco. A deficiência de zinco está relacionada a um aumento na produção de IL-1 β e redução na síntese de IL-2, importante em inúmeras funções imunes, dentre elas a proliferação de células antígeno-específicas e a proliferação e diferenciação das células *natural killers* (NK [87, 88]).

A maior parte dos resultados experimentais em animais e humanos sugere que o zinco desempenha um papel fundamental na imunocompetência. As principais anomalias imunológicas decorrentes da deficiência do zinco são: diminuição da quimiotaxia de neutrófilos e de linfócitos, redução da atividade da timulina sérica, um hormônio zinco-dependente necessário à maturação de células T- auxiliares [89], disfunção das células T auxiliares do tipo TH1 e TH2, diminuição do recrutamento de células T virgens e redução da atividade das células NK [13, 90]. De maneira esquematizada na figura 2.

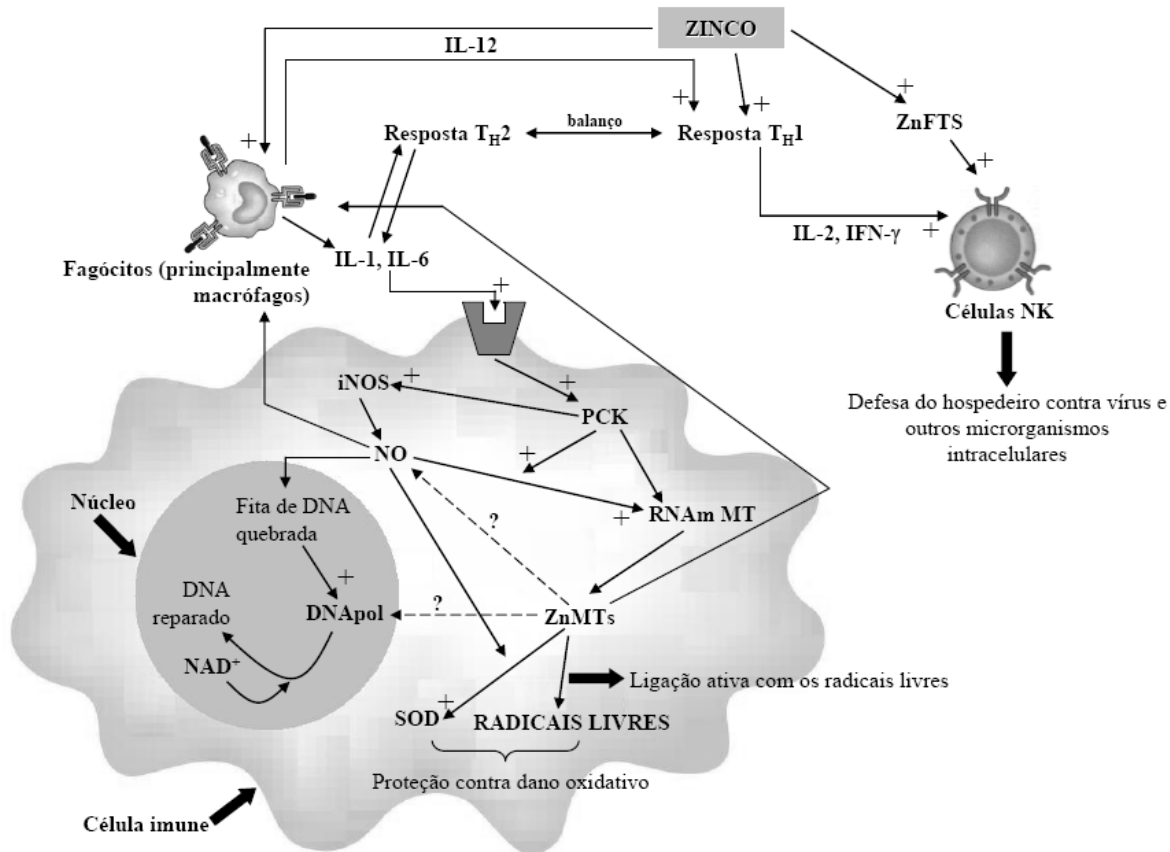


Figura 2. Participação do Zn na modulação do balanço entre a atividade das células T helper (TH1 e TH2) e na geração de uma resposta adequada a infecções. Abreviações: citocina interferon-gama (IFN- γ), óxido nítrico (NO), Proteína C quinase (PKC), enzima superóxido dismutase (SOD); timulina (ZnFTS) e metalotioneína associada ao Zn (ZnMT).

Fonte: Rev Transdisciplinar de Gerontologia 2009, 3(1): 34-45.

2.6.3. Zinco e imunossenescência

Durante o envelhecimento, é observado um declínio da resposta imunológica e um aumento na síntese de citocinas pró-inflamatórias (*inflamm-aging*), acompanhado por uma redução no consumo alimentar de zinco e um risco elevado de deficiência desse nutriente [8].

Especialmente com relação ao *status* nutricional relativo ao Zn e o seu envolvimento na função imune, diversos estudos têm relatado efeitos prejudiciais na geração de uma resposta imune nos idosos com deficiência desse nutriente [91, 92].

As alterações no sistema imune observadas tanto no envelhecimento como na deficiência do zinco demonstram-se similares, indicando uma relação estreita entre a imunossenescência e a deficiência desse nutriente. As similaridades são observadas na resposta imune inata e adaptativa, bem como na função dos neutrófilos. Durante o envelhecimento, embora o número total de neutrófilos não se encontre alterado, há uma redução na atividade quimiotática e na capacidade oxidativa, bem como uma baixa resistência à apoptose. Nesse contexto uma boa biodisponibilidade do íon zinco preserva a capacidade oxidativa dos neutrófilos, via redução da sinalização de IL-6 [93].

Inúmeros são os fatores desencadeadores da deficiência desse nutriente em idosos, desde a baixa ingestão alimentar até a diminuição na concentração plasmática em função do aumento na expressão de proteínas ligantes ao zinco que sequestram esse nutriente em situações de estresse, em especial o envelhecimento [8].

Nos idosos as principais resultantes da deficiência de Zn estão correlacionadas com o agravamento dos prejuízos ocasionados pela imunossenescência. Se por um lado a imunossenescência é capaz de elevar naturalmente o índice de mortalidade da população idosa devido às alterações no organismo que impedem a geração de uma resposta imune eficaz contra os agentes patogênicos [53], por outro lado a deficiência de Zn pode agravar os defeitos nos mecanismos efetores das respostas imunes do idoso inerentes ao processo de envelhecimento [94].

Em contrapartida, uma adequada ingestão desse metal favorece a eficiência da resposta imune inata e adaptativa. No estudo desenvolvido por Raviaglia *et al.* [95], envolvendo 65 idosos com mais de 90 anos de idade, os autores demonstraram

que a função imune mediada pelas células NK, foi associada positivamente com os níveis séricos de zinco e selênio.

Na deficiência de zinco, há baixa disponibilidade desse elemento para ativação da timulina, ocasionando uma disfunção da resposta imune, potencializando os processos resultantes da imunossenescência. Além disso, a deficiência moderada de Zn associada aos efeitos da imunossenescência pode ocasionar um desequilíbrio nas funções das células T e redução do recrutamento de células T virgens. Esse fenômeno pode desempenhar um papel relevante para o desenvolvimento de doenças inflamatórias, dentre elas a aterosclerose [8, 94].

2.6.4 Zinco e aterosclerose

A contribuição da deficiência de zinco no desenvolvimento e progressão da aterosclerose permanece em debate, apesar de vários estudos associarem as alterações do metabolismo do zinco às DCV [96-98]. Inúmeros autores têm proposto que o desenvolvimento da aterosclerose, iniciada por processos inflamatórios e oxidativos, pode ser acelerado em situações com déficit desse nutriente [96-98].

Vários mecanismos envolvidos na patogênese da doença aterosclerótica estão associados ao metabolismo do zinco [85, 96, 98]. Tem sido proposto que o zinco desempenhe um papel protetor contra a aterosclerose em função de suas propriedades anti-inflamatória, antioxidante e outras [9].

Durante a ativação de macrófagos, observada em processos ateroscleróticos, ocorre a liberação de citocinas inflamatórias, tais como IL-6 e TNF- α . Essas citocinas estimulam a produção de fatores de adesão pelas células endoteliais vasculares. Estudos mostraram que a deficiência de zinco aumenta a expressão do da IL-6 e do TNF- α , responsáveis pela ativação dos monócitos [99]. Em um recente estudo clínico randomizado e duplo-cego, foi observada uma redução na concentração de

PCR-us ($P = 0,015$), IL-6 ($P = 0,013$), VCAM-1 ($P = 0,001$), após a suplementação de 45mg de zinco em idosos por 6 meses. Em culturas celulares, foi observada diminuição significativa na síntese de TNF- α e IL-1 β ($P < 0,05$) [9].

Algumas evidências sugerem o efeito protetor do zinco na manutenção da integridade das células endoteliais e assim na diminuição da suscetibilidade vascular à aterosclerose, por meio de sua participação em várias vias de sinalização, dentre elas a do fator transcricional pró- inflamatório “nuclear factor- kB” (NF- kB). A deficiência de zinco está relacionada a uma hiperregulação da atividade do NF- kB em células endoteliais, presente nas células musculares lisas de lesões ateroscleróticas [85]. O NF- kB é um fator chave da transcrição que regula a expressão de inúmeros genes, incluindo o genes da IL-6, da TNF- α e da PCR, e é responsável pela sinalizações de inúmeras respostas inflamatórias, bem como da expressão de moléculas de adesão. A ligação do NF- kB ao DNA é dependente de zinco e, assim, sua atividade de transcrição é regulada por esse elemento [98, 100].

O zinco pode desenvolver também o papel anti-aterogênico por meio da inibição do estresse oxidativo e apoptose de células endoteliais durante processos inflamatórios [101]. A produção aumentada de ERO e a ativação das cascatas de sinalização redox-dependentes estão envolvidas na aterosclerose [11, 13]. Entre outros efeitos, esse mineral inibe a NADPH-oxidase – enzima envolvida na produção de ERO – e atua como cofator da superóxido dismutase (SOD), uma das enzimas do sistema antioxidante endógeno [86, 102]. Além disso, participa diretamente da neutralização do radical livre hidroxila e induz a produção de metalotioneínas, substâncias que também atuam na remoção desse radical [86, 103]. Em adição, tem sido bem demonstrado que o estresse oxidativo, induzido pela deficiência de zinco, ativa o NF-kB e citocinas em diferentes células, incluindo as células endoteliais [104].

A deficiência de zinco pode também influenciar a função endotelial e remodelamento da parede arterial relacionada à idade. O envelhecimento está associado à depleção e fragmentação da elastina, e deposição de colágeno, o que ocasiona o aumento da rigidez arterial e elevação da pressão arterial central [6]. As metaloproteinases (MMP) são endopeptidases dependentes do zinco, que medeiam a degradação de colágeno, elastina e outros componentes da matriz extracelular da parede arterial. Indivíduos com deficiência de zinco apresentam atenuação da atividade da MMP, aumento da deposição de colágeno e da rigidez na parede da artéria [14, 15]. Estudos *in vitro* indicam o funcionamento do zinco na manutenção da integridade das células endoteliais contra o estresse oxidativo, a ação de citocinas pró - inflamatórias e de outros estímulos apoptóticos [105].

Recentemente, uma associação inversa entre a concentração sérica de zinco e resultados adversos de pacientes submetidos à angiografia coronariana foi descrita no estudo *Ludwigshafen Risk and Cardiovascular Health* (LURIC). Nesse estudo os níveis séricos de zinco foram negativamente relacionados à idade e a marcadores inflamatórios. Não houve diferença significativa nas concentrações de zinco entre o grupo controle e o grupo com doença coronariana. No entanto, o grupo com doença coronariana apresentou maior concentração de PCR ($P = 0,0001$) e neopterinina ($P = 0,0005$), um marcador da resposta imune. Além disso, foi observada no grupo com DAC uma correlação inversa entre a PCR e os níveis plasmáticos de zinco [106].

Bao *et al* (2008) propuseram o possível mecanismo pelo qual o zinco poderia regular positivamente as mais variadas vias envolvidas no desenvolvimento da aterosclerose. A inflamação gera o estresse oxidativo, resultando na oxidação da LDL nos macrófagos e células endoteliais. A produção de LDL-oxidada ou EROS estimula vias de sinalização, como Proteína Quinase mitogênio induzida, levando à

translocação nuclear de fatores de transcrição, como o fator transcricional NF-KB. Subsequentemente, a expressão de numerosos genes, incluindo os das citocinas IL-6, da TNF- α , da PCR e do fibrinogênio, é rapidamente induzida, intensificando a atividade inflamatória sistêmica, que resulta no desenvolvimento e progressão da aterosclerose [11]. Nesse estudo, a suplementação de zinco atuou como fator de proteção contra a doença por meio dos seguintes mecanismos: i) inibição da produção de ERO via metalotioninas, SOD e inibição NADPH-oxidase; ii) redução na ativação do NF-KB e na expressão de genes da TNF- α , IL-1b e VCAM e iii) aumento na expressão da proteína citoplasmática A20 e do receptor ativado por proliferação peroximal- α (PPAR- α), ambas proteínas dedos de zinco com ação anti-aterogênica. As proteínas dedos de zinco são representadas por dois arranjos protéicos constituídos de uma α -hélice e uma folha β -pregueada, mantidas unidas por um íon de zinco na região central [9].

Inúmeros componentes nutricionais e estilos de vida foram identificados como fatores de risco para o desenvolvimento da doença aterosclerótica [107-109], no entanto a associação entre o consumo de zinco e a aterosclerose ainda permanece inconclusiva. Estudos epidemiológicos, embora limitados, têm demonstrado associação entre o consumo desse elemento e a DCV. Um estudo de coorte realizado em 2005 demonstrou uma associação inversa entre a ingestão desse elemento e mortalidade cardiovascular [110]. Em outro trabalho, mais recente, de corte transversal, proveniente da coorte *The Korean Multi-Rural Communities Cohort Study in Rural Communities*, mostrou uma associação inversa entre a ingestão de zinco e a aterosclerose subclínica, verificada por meio da avaliação da espessura médio-intimal (IMT) da carótida comum [111]. Em contrapartida, no estudo transversal, oriundo da coorte *The Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis (MESA)*,

não foi observada uma associação consistente entre o consumo de micronutrientes, dentre eles o zinco, e os marcadores de aterosclerose subclínica [112].

Embora a associação entre a concentração do zinco com a doença aterosclerótica ainda apresente controvérsias, um estado deficitário deste nutriente pode levar a uma exacerbação do quadro inflamatório e de doenças crônicas relacionadas à idade. Diante das diversas funções atribuídas ao Zn e da constatação de que sua fisiologia no organismo do idoso começou a ser estudada somente no último século, é possível que este elemento exerça funções ainda desconhecidas e que sua presença no organismo esteja ainda mais correlacionada com a qualidade de vida das populações. Os estudos sobre este elemento são importantes, pois podem auxiliar na superação dos desafios pertinentes ao envelhecimento populacional.

2.7 Inquéritos Alimentares

Um dos mais desafiadores aspectos da ciência e prática da nutrição e dietética é a mensuração do consumo de alimentos, devido às limitações dos métodos para verificar a ingestão acuradamente [113]. Os três instrumentos investigativos mais utilizados em pesquisas populacionais para avaliação do consumo alimentar são: o recordatório de 24 horas (R24h), o registro alimentar (RA) e o questionário de consumo alimentar (QFA).

Não há um método considerado “padrão-ouro” para avaliação com grande precisão, todos os instrumentos apresentam suas vantagens e limitações [114]. O R24h é uma das técnicas mais amplamente empregada em pesquisas populacionais, sendo os mais comuns os de um a três dias. A principal vantagem deste método é ser rápido e de fácil administração, pois não necessita que o entrevistado seja alfabetizado [115, 116]. Outras vantagens são: baixo custo, pouco

esforço do entrevistado e não interferência em seu comportamento alimentar. No entanto, pode não representar a ingestão habitual em função da variação diária do consumo alimentar, é dependente da memória do entrevistado e necessita de um entrevistador treinado. Além disso, requer mais de uma entrevista para melhor representação da dieta usual, o que pode torná-lo mais oneroso [115, 116].

Já o RA apresenta como vantagem o fato de que o registro é feito na hora em que o alimento está sendo consumido, assim, sendo independente da memória do indivíduo. Além disso, pode fornecer informações detalhadas sobre alimentos e padrões alimentares. Algumas desvantagens devem ser consideradas, como necessidade de indivíduos alfabetizados e motivados, alteração de hábitos alimentares durante o período de execução e omissão de certos tipos de alimentos. Por ser mais onerosa, a utilização do RA é restrita a pequenas amostras, que apresentam motivação e que sejam capazes de seguir procedimentos de registro adequado [115, 116].

O QFA é amplamente utilizado em estudos epidemiológicos que visam avaliar a relação entre a ingestão alimentar e DCNTs [113]. Esse tipo de método tem ganhado importância na pesquisa epidemiológica que relaciona o consumo de alimentos, nutrientes ou outros componentes alimentares e o risco de doença [117]. Tal instrumento apresenta algumas vantagens como baixo custo, fácil aplicação, capacidade de caracterizar a dieta habitual dos indivíduos, classificando-a de acordo com níveis de consumo e aplicação para um grande número de pessoas [114-116]. O elemento essencial do QFA é precisamente aquele em que o R24 h é impreciso: capturar a probabilidade de consumo da maioria dos alimentos, em um determinado período pregresso de tempo, em geral, o ano anterior [118]. No entanto, o QFA também apresenta suas limitações. O questionário pode apresentar lista incompleta de alimentos, erros na estimativa da frequência alimentar e tamanho das porções,

além de requerer a memória de hábitos do passado [115, 119]. Aspectos como etnicidade, grau de escolaridade e idade do entrevistado também podem influenciar a fidedignidade das informações colhidas pelo QFA [120].

Apesar de todas essas limitações, estudos sobre validação de métodos de inquérito dietético afirmam que QFA ainda se constitui um dos melhores métodos de investigação nutricional em estudos epidemiológicos, pois suas vantagens tornam possível sua aplicabilidade em pesquisas de grande porte, além de possuir relativa confiabilidade [121-123] e boa correlação com a ingestão de micronutrientes, dentre eles o zinco [124, 125]. As vantagens acima mencionadas justificaram a escolha desse método como inquérito dietético utilizado no presente estudo.

3. OBJETIVOS

1- Avaliar a associação entre os níveis plasmáticos de zinco e sua ingestão dietética com a resposta inflamatória sistêmica mediada pela PCR.

2- Avaliar a associação entre os níveis plasmáticos de zinco e sua ingestão dietética com a doença aterosclerótica carotídea e coronariana.

3- Avaliar a associação entre os níveis plasmáticos de zinco e sua ingestão dietética com as alterações funcionais e estruturais da parede arterial.

4. Casuística e Métodos

4.1. Casuística

A população estudada é composta de participantes do estudo *The Brazilian Study on Healthy Aging* [126], no qual foram incluídos homens e mulheres acima de 80 anos, sem manifestação clínica de doença cardiovascular, os quais procuraram espontaneamente a clínica cardiológica privada, Clínica Biocórdios, para avaliação médica preventiva. Os pacientes foram arrolados de 17 de dezembro de 2008 a 10 de agosto de 2011.

Os critérios de inclusão adotados foram: (i) idade igual ou superior a 80 anos de idade e (ii) ausência de manifestação clínica de IAM, AVC ou doença arterial periférica obstrutiva. Já os critérios de exclusão foram: (i) doença auto-imune, (ii) neoplasias de qualquer tipo atuais ou passadas, (iii) doença pulmonar obstrutiva sintomática ou assintomática grave, (iv) uso de corticóides ou anti-inflamatórios não hormonais nos últimos 30 dias, (v) doença renal crônica grave (clearance de creatinina menor que 25 mL/min /1.73m²), (vi) infecções crônicas ou recorrentes, (vii) insuficiência cardíaca (fração de ejeção < 50%), (viii) hepatopatias definidas por alterações de provas bioquímicas e ou funcionais hepáticas ou exames de imagem compatíveis com hepatopatia grave, (ix) dependência funcional ou institucionalização e (x) habilidade cognitiva anormal verificada pelo teste “mini-mental score”.

Os pacientes com essas características foram selecionados a partir do prontuário tendo como referência a data de nascimento no momento da convocação. Foram selecionados pela data de nascimento 1196 prontuários. Desta primeira amostra, 229 indivíduos foram selecionados pelos critérios supracitados e convocados para entrevista médico-nutricional, quando mais 28 indivíduos foram excluídos. Nove indivíduos foram excluídos por neoplasia em período inferior a seis

meses da inclusão, 1 indivíduo por antecedente de AVC, 5 por uso contínuo de corticóide inalatório, 3 por insuficiência cardíaca, 1 por antecedente de revascularização miocárdica cirúrgica, 1 paciente por apresentar angina instável antes da realização dos exames do estudo, 1 indivíduo devido a presença de psoríase e outro devido a presença de hipertensão pulmonar grave. Ainda houve 6 desistências. Após o processo de seleção 201 indivíduos foram efetivamente arrolados no estudo (Figura 3).

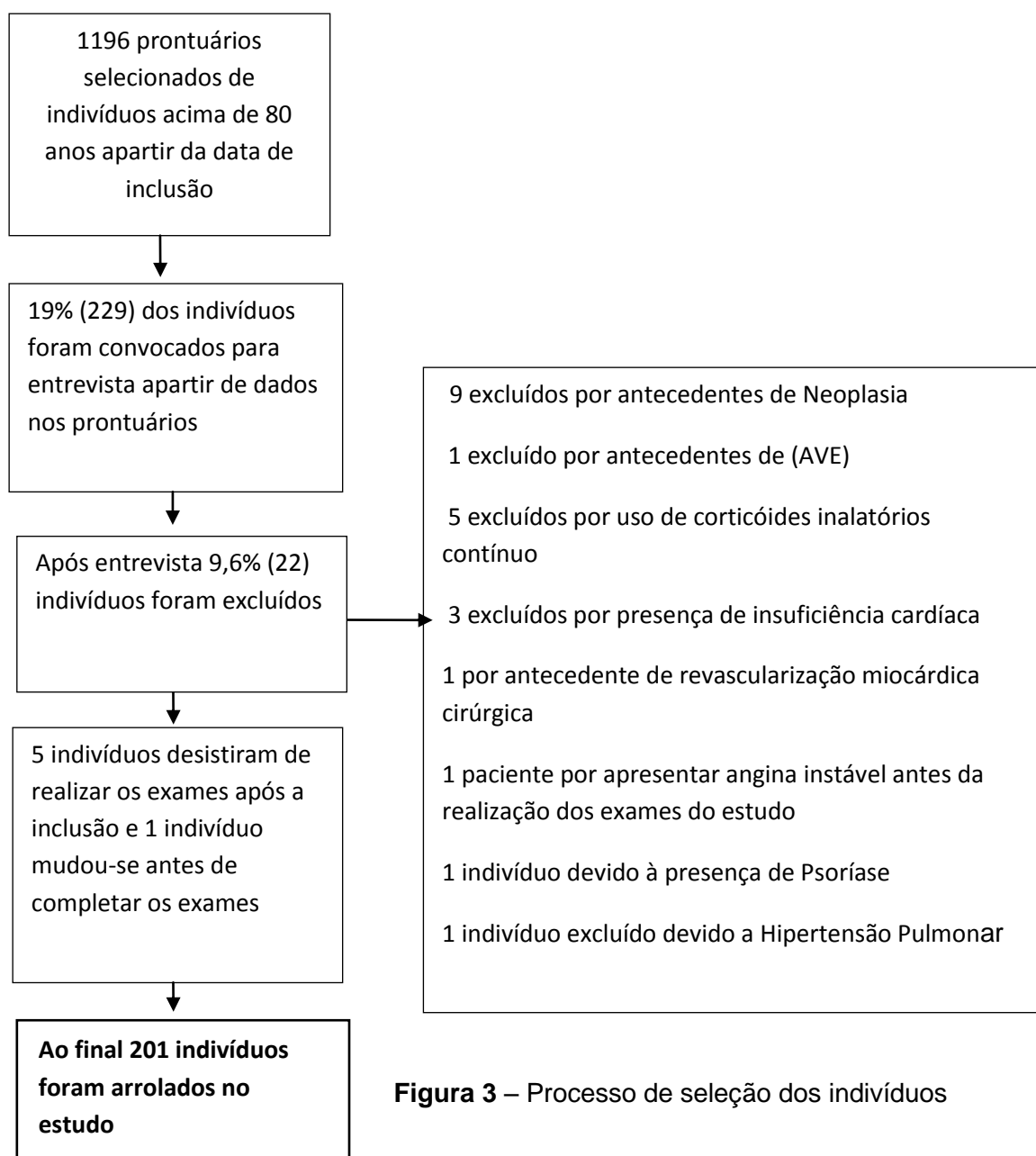


Figura 3 – Processo de seleção dos indivíduos

O estudo foi aprovado pela comissão de ética da Secretaria de Saúde do Distrito Federal (SES/DF) (Anexo A) e todos os pacientes incluídos assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido (Anexo B), autorizando a realização do estudo.

4.2 Delineamentos do estudo

Trata-se de um estudo analítico observacional do tipo transversal, aninhado à coorte do estudo *The Brazilian Study on Healthy Aging*, uma coorte prospectiva, iniciada em 2008 e desenvolvida para identificar os marcadores de risco cardiovascular em muito idosos que procuraram atendimento para cuidados de prevenção primária [126].

4.3 Avaliação Experimental

Os pacientes foram submetidos a: (i) questionário médico-nutricional, (ii) ultrassonografia de carótidas, (iii) avaliação da função endotelial por hiperemia reativa da artéria braquial, (iv) angiotomografia coronariana e (v) coleta de sangue para análise bioquímica detalhada abaixo. Em um intervalo máximo de um mês, os pacientes foram submetidos a todos os exames supracitados.

4.4 Análises bioquímicas

Após coleta, o sangue foi centrifugado em EDTA a 5° C, 4500 rpm por 15 minutos para separação do plasma e creme leucocitário. Amostras de plasma do e do creme leucocitário foram congeladas a -80° C para posterior investigação. Outras alíquotas foram encaminhadas para dosagem imediata em laboratório

especificamente contratado para realizá-las nas condições descritas abaixo. O laboratório contratado é certificado pelo Programa de Acreditação de Laboratórios Clínicos da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica. Foram dosados por testes enzimáticos, glicose (Glucose GOD-PAP, Roche Diagnostics, Mannheim, EUA), colesterol total (CHOD-PAP, Roche Diagnostics, Mannheim, EUA), triglicérides (GPO-PAP, Roche Diagnostics, Mannheim, EUA), HDL colesterol (HDL colesterol sem pré-tratamento, Roche Diagnostics, Mannheim, EUA) e zinco plasmático (Atomic Absorption Spectrometry). A proteína C reativa de alta sensibilidade foi determinada por imunonefelometria (Cardiophase, Dade Behring, Marburg, EUA). A hemoglobina glicada foi determinada por cromatografia líquida de alta performance (HPLC), por método comercialmente disponível (Variant II, Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA, EUA). O ácido úrico foi determinado por método Uricase (Hitachi, Tokyo Japan), Sódio e Potássio séricos foram determinados pelo método Eletrodo Íon seletivo – Indireto (Hitachi, Tóquio Japão). Magnésio sérico foi determinado pelo método Azul de Xilidil(Hitachi, Tóquio Japão). Uréia sérica foi determinado pelo método cinético/UV GLDH 37°C (Hitachi, Tóquio Japão). Creatinina sérica foi determinado pelo método Picrato Cinético (Hitachi, Tóquio Japão). A dosagem das proteínas totais e frações foram determinadas pelo método Biureto (Hitachi, Tóquio Japão). O Hemograma com contagem de plaquetas foi determinado de forma automatizada (Sysmex XE2100 Siemens,Alemanha).

4.5 Avaliação antropométrica

Na avaliação antropométrica, foram verificados peso, altura, altura do joelho para pacientes impossibilitados em permanecer na posição ereta, circunferência abdominal (CA) e pregas cutâneas (tricipital, bicipital, supra-ílica e subescapular).

O peso foi aferido com a utilização da balança mecânica da marca Filizola®, com capacidade de 150kg e precisão de 0,1Kg, com o indivíduo posicionado no

centro da plataforma da balança, em posição ortostática (indivíduo em pé, na posição ereta com os pés afastados à altura do quadril, apoiado sobre os dois pés, com os ombros descontraídos e os braços ao lado do corpo), descalço e com a menor quantidade de vestimenta possível. A estatura foi medida em estadiômetro acoplado à balança, com escala métrica vertical com capacidade 2,10m e precisão de 1mm, com o indivíduo em pé, descalço, com os calcanhares juntos, costas retas, os braços estendidos ao lado do corpo e com a cabeça orientada segundo o plano de Frankfurt (a cabeça é posicionada de modo que a linha imaginária que liga a pálpebra inferior à parte mais alta do lóbulo da orelha esteja paralela em relação ao solo).

A partir dos dados de peso e altura foi obtido o Índice de Massa Corporal (IMC) em Kg/m^2 , calculado pelo peso (em quilogramas) dividido pela altura (em metros) ao quadrado, e classificado de acordo com a recomendação da OMS [127] e a padronização de Lipschitz, AD [128], o qual sugere como ponto de corte para normalidade, o intervalo de 22,0 a 27,0 kg/m^2 para o IMC.

A circunferência abdominal foi medida com o paciente em pé, abdome relaxado, braços estendidos ao longo do corpo, pés separados e região abdominal despida. Utilizou-se fita métrica inelástica da marca Carciomed®, que circundava o indivíduo no ponto médio entre a última costela e a crista ilíaca, e a leitura era realizada no momento da expiração. Para classificação de risco cardiovascular é utilizada a recomendação da WHO (2000) [127].

Na avaliação do percentual de gordura corporal foi utilizada a equação de Durnin e Womersley (1974) [129] respectiva para idade, que utiliza as quatro dobras cutâneas para o gênero feminino (*Densidade Corporal (DC) = 1,1339 - 0,0645 x log10(Dobra cutânea subescapular + Dobra cutâneatriceptal + Dobra cutânea supra-ilíaca + Dobracutânea biceptal)*) e para o gênero masculino (*DC = 1,1715 -*

$0,0779 \times \log_{10}(\text{Dobra cutânea subescapular} + \text{Dobra cutânea triceptal} + \text{Dobra cutânea supra-ílica} + \text{Dobra cutânea biceptal})$). Posteriormente, para conversão da DC em percentual de gordura corporal (%G), foi utilizada a equação de Siri: [130] ($\%G = [(4,95/ DC) - 4,50] \times 100$). As pregas cutâneas foram avaliadas em triplicata, do lado direito do corpo, com a utilização de um adipômetro (Lange[®], EUA).

Para a obtenção da prega cutânea triceptal, o braço direito estava flexionado em direção ao tórax, formando um ângulo de 90°, onde foi localizado e marcado o ponto médio entre o acrômio e o olécrano. Após este passo, foi solicitado ao indivíduo que ficasse com o braço estendido ao longo do corpo com a palma da mão voltada para a coxa, sendo separada levemente a prega do braço, desprendendo-a do tecido muscular e aplicado o adipômetro formando um ângulo reto. Para a prega cutânea biceptal, o indivíduo estava com a palma da mão voltada para fora, onde foi marcado o local da medida (01 cm acima do local marcado para a prega triceptal), foi segurada a prega verticalmente e aplicado o adipômetro. Para a obtenção da prega cutânea subescapular, foi marcado o local logo abaixo do ângulo inferior da escápula, levantada a prega 01 cm abaixo desse ângulo de tal forma que se pudesse observar um ângulo de 45° entre esta e a coluna vertebral, aplicando-se o adipômetro, estando o indivíduo com os braços e ombros relaxados. A prega cutânea supra-ílica foi coletada formando-se na linha média axilar, com o dedo indicador logo acima da crista-ílica, na posição diagonal [131].

4.6 Avaliação da ingestão dietética do zinco

Para a coleta de dados de ingestão dietética do zinco foi utilizado um questionário de frequência de consumo alimentar (QFA) semi-quantitativo,

desenvolvido para a população adulta, validado por Ribeiro *et al.* [132] e adaptado para a população em estudo (Apêndice).

Os participantes referiram a frequência do consumo alimentar usual e a porção média consumida de 62 itens alimentares durante os últimos três meses, ordenados em 10 grupos (leite e derivados, carnes e ovos, óleos e gorduras, petiscos e enlatados, cereais e leguminosas, hortaliças e frutas, sobremesas e doces, bebidas, produtos *diet* e *light* e temperos). No grupo das hortaliças e frutas foram obtidos os três representantes mais frequentemente consumidos para cada entrevistado. O item temperos, incluído no presente instrumento, avaliava as quantidades de sal e óleo consumidas mensalmente pela família. As categorias de frequência de consumo avaliadas incluídas foram: (i) uma vez por dia; (ii) duas ou mais vezes por dia; (iii) uma vez por semana; (iv) duas a quatro vezes por semana; (v) cinco a seis vezes por semana; (vi) uma a três vezes por mês e (vii) raramente ou nunca. Foi questionado também o uso de suplementos nutricionais para adicionar às informações referentes à ingestão do zinco.

A porção média em medidas caseiras de consumo foi obtida para todos os alimentos da lista e transformadas em gramaturas com a utilização da Tabela para Avaliação de Consumo Alimentar em Medidas Caseiras [133]. As porções alimentares em medidas caseiras foram padronizadas entre os avaliadores com a ajuda do Registro Fotográfico para Inquéritos Dietéticos [134].

Para o cálculo do consumo diário de zinco, transformou-se a frequência de consumo respectiva em base-dia, por meio da multiplicação da porção total do alimento consumida (em gramatura) por um dos seguintes valores, conforme a frequência de consumo do mesmo: (i) uma vez por dia=1; (ii) duas ou mais vezes por dia=2; (iii) uma vez por semana=0,14; (iv) duas a quatro vezes por

semana=0,42; (v) cinco a seis vezes por semana=0,7; (vi) uma a três vezes por mês=0,07; e (vii) raramente ou nunca=0.

A ingestão dietética do zinco foi quantificada segundo dados de composição de alimentos da Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (TACO) [135]. Quando a quantidade de zinco não estava disponível na tabela de referência utilizada, foram consultadas fontes adicionais para o cálculo da composição desse nutriente [133, 136, 137].

Esse QFA foi avaliado quanto à variabilidade intra e interobservador. Foram arrolados 21 voluntários e coletada urina de 24 horas em dois dias não consecutivos, não excedendo mais de cinco dias, para análise da excreção de sódio urinário. Na semana subsequente, foi aplicado o QFA em dois momentos diferentes por duas nutricionistas experientes [138].

A variabilidade intra e interobservador foi verificada para a ingestão de sódio ($1 \pm 3\%$ e $3 \pm 10\%$, respectivamente) e para o total de calorias diárias ($0 \pm 3\%$ e $3 \pm 8\%$, respectivamente), demonstrando uma baixa variabilidade. As médias das duas avaliações de excreção de sódio e da estimativa do consumo de sódio foram utilizadas para comparação entre os métodos, sendo observada uma significativa correlação entre eles ($r=0,84$; $p < 0,0001$) [138].

4.7 Avaliação da magnitude da doença aterosclerótica carotídea

A avaliação da espessura médio-intimal (IMT) e a presença de placas carotídeas foram avaliadas utilizando ultrassonografia modo B de alta resolução (Philips, modelo IE 33, 3-9 MHz transdutor linear, Philips Medical Systems, Andover, Massachusetts, USA) de acordo com os protocolos da Associação Americana de Ecocardiografia [139]. As medidas foram realizadas bilateralmente na parede posterior do bulbo da carótida comum e na carótida interna através de um programa de detecção automática de borda (QLAB versão 6.0 software). Placa carotídea foi

definida como a presença de espessamento focal pelo menos 50% maior que áreas adjacentes ou como região focal com IMT maior que 1,5 mm que causa protuberância para a luz do vaso e distintas das bordas adjacentes. O diâmetro diastólico final e o pico sistólico da artéria carótida comum bilaterais foram obtidos por meio do rastreamento contínuo de três ciclos e obtida uma média para calcular os seguintes índices de elasticidade arterial: modelo de elasticidade de Young, índice de rigidez e complacência arterial. O modelo de elasticidade de Young fornece uma estimativa da rigidez arterial, que é independente da espessura da parede (íntima média); a complacência arterial mede a capacidade das artérias em expandir como resposta a pressão causada pela contração cardíaca e pelo relaxamento; a rigidez arterial é considerada relativamente independente à pressão sanguínea.

4.8 Avaliação da magnitude da doença aterosclerótica coronariana

A doença aterosclerótica coronariana foi avaliada por tomografia computadorizada (TC) com multidetectores de 64 canais (Aquilion 64, Toshiba, Ottawara, Japão). O Escore de Cálcio (EC) foi obtido com a utilização de “trigger” pelo ECG com pausa respiratória. O protocolo de aquisição das imagens utilizou 120Kv e 300 mA, com cortes tomográficos de espessura de 3mm. A interpretação dos dados foi realizada de acordo com o protocolo de Agatston, no qual foi verificada uma área de pelo menos 3 pixels adjacentes com valores superior a 130 unidades Hounsfield (HU). O escaneamento foi realizado utilizando velocidade de rotação do tubo de raio X (“gantry”) de 400 ms, corrente do tubo – 150 mA, voltagem do tubo – 120Kv e colimação de 8 x 4 mm, durante apnéia respiratória de cerca de 10 segundos, imediatamente após a injeção de contraste iodado não iônico. Aproximadamente 100ml de contraste endovenoso (350 mg I/ml) foram administrados através de um injetor automatizado a uma velocidade de 5ml/s. Todos

os escaneamentos da tomografia foram feitos em cortes de 0,5 mm de espessura, utilizando-se 64 colunas de detectores. Os parâmetros de escaneamento recomendados incluíam kV de 120, e até no máximo mAs de 500 baseado no peso do paciente. A média da dose de radiação estimada por paciente foi de 8 – 12 mSV. As imagens das angio-tomografias foram analisadas com o auxílio de uma estação de trabalho (Vitrea® - Vital Image) por dois médicos experientes, sem conhecimento dos resultados dos outros exames, de forma independente entre si e em momentos distintos, baseados em critérios definidos anteriormente [140]. O diagnóstico de lesão coronariana obstrutiva significativa foi definida pela presença de pelo menos uma placa com estenose luminal superior a 50%. O remodelamento arterial coronariano foi definido quando o diâmetro no local da placa apresentou-se, pelo menos, 10% maior do que o segmento de referência. A placa coronariana de baixa atenuação foi definida como a placa não calcificada, com valor menor que 30 HU.

4.9 Avaliação da função endotelial Pelo Teste da Reatividade da Artéria

Braquial

A função endotelial foi estudada por meio da avaliação da dilatação do fluxo mediado (DFM) na artéria braquial esquerda por ultra-sonografia de alta resolução não invasiva. Os exames foram realizados sempre no início da manhã (entre 7:30 e 9:00), em sala com controle de luminosidade e temperatura (aproximadamente 22°C), em equipamento da marca Philips, modelo IE 33 e transdutor linear de 3-9 MHz. Os pacientes permaneceram em jejum de doze horas, sem medicações vasoativas por 24 horas, sem realizar exercícios físicos, fumar ou ingerir alimentos com cafeína, alto teor de gordura ou vitamina C nas 24 horas anteriores ao exame. O paciente permanecia em repouso (em posição supina) por 10 minutos até o início

do exame. Foram então obtidas imagens bidimensionais da artéria braquial, em eixo longitudinal, aproximadamente dois centímetros acima da fossa antecubital. Quando as primeiras imagens em repouso eram adquiridas, a pele do paciente era marcada para que todas as obtenções fossem feitas no mesmo local. O fluxo sanguíneo foi analisado colocando-se a amostra-volume do Doppler pulsado no centro da artéria braquial, com angulação corrigida e apropriada (ângulo $\approx 60^\circ$). A hiperemia reativa (DFM) foi induzida pela insuflação de manguito acoplado ao manômetro de mercúrio no antebraço esquerdo, 50mmHg acima da pressão arterial sistólica do paciente. Após cinco minutos, a pressão do manguito era liberada, sendo registrada, nos primeiros 15 segundos seguintes, a variação do fluxo local da hiperemia reativa. As imagens bidimensionais foram adquiridas durante os dois minutos seguintes. A variação percentual do diâmetro da artéria braquial foi calculada em comparação aos valores respectivos observados em repouso. A reatividade da artéria braquial foi analisada por um profissional experientes, o qual não possuía informações clínicas sobre os pacientes. A reprodutibilidade intra-observador encontrada foi de 95%.

4.10 Métodos Estatísticos

Os dados foram apresentados como média \pm desvio-padrão para dados normalmente distribuídos ou mediana e intervalo interquartil para dados não paramétricos. As variáveis categóricas foram comparadas por meio do teste qui-quadrado ou ANOVA bicaudal. A análise de covariância (ANCOVA) foi utilizada para avaliar a associação entre o zinco plasmático expresso em tercís e os demais dados paramétricos, ajustados para idade e gênero. Pré-requisitos para os modelos ANCOVA (linearidade, normalidade da distribuição e igualdade de variância) foram verificados, utilizando-se histogramas, gráficos de probabilidade e de resíduos. O

teste de Pearson foi utilizado para análise de correlação entre os níveis de zinco plasmático e dietético. Modelos de regressão logística ordinal multivariada foram utilizados para avaliar a relação entre os diferentes valores de zinco no plasma através dos níveis crescentes de PCR plasmáticos, sendo o grupo de referência aqueles no menor tercil. Valores de p inferiores a 0,05 foram considerados estatisticamente significantes. As análises estatísticas foram realizadas usando-se IBM-SPSS para Mac versão 20.0 (IBM , Armonk, NY , EUA).

5. Resultados

5.1 Características gerais da população estudada

Conforme a Tabela 1, foram incluídos 201 participantes, com idade média de 84 anos e predominância do sexo feminino. Foi observada frequência de HAS de 76% e alta prevalência de Síndrome Metabólica (55%), conforme os critérios utilizados pela IV Diretriz Brasileira de Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose [141].

Além disso, observou-se baixa frequência de tabagismo e de sedentarismo, uma vez que 26% dos participantes são fisicamente ativos, superando o valor esperado de 16% para indivíduos acima de 65 anos, segundo parâmetros da Pesquisa Nacional por Amostras de Domicílios (PNAD) [21].

Quanto ao estado nutricional da amostra geral, observou-se IMC médio de $25,7 \pm 4,3 \text{ kg/m}^2$ (Tabela 1) e maior frequência de idosos com peso normal (46%). Ainda assim, parcela significativa foi classificada com excesso de peso (38%). Paradoxalmente, a taxa de baixo peso também foi expressiva, chegando a 16% desses idosos, segundo pontos de corte adotados por Lipischitz [128]. Ao se adotar os critérios de classificação de IMC segundo a OMS [127], o percentual de pacientes com índice de massa corpórea (IMC) acima de 25 kg/m^2 , caracterizando sobrepeso, foi de 34% e o de pacientes com IMC acima de 30 kg/m^2 , classificando a obesidade, foi de 20%. Ao todo, 43% dos participantes foram classificados com peso adequado. Apenas 3% dos participantes apresentaram IMC menor que $18,5 \text{ kg/m}^2$, caracterizando magreza.

A média de gordura corporal encontrada foi de $36 \pm 6\%$. Ao se avaliar o percentual de gordura corporal segundo o sexo, 66% dos homens e 88% das mulheres apresentaram excesso de gordura corporal (Percentual de gordural corporal $> 25\%$ em homens e $> 32\%$ mulheres)[142]. O valor médio de CA foi de 94

± 12 cm, 15% das mulheres apresentaram risco elevado para doenças cardiovasculares e 73% risco muito elevado. Entre os homens, 25% apresentaram risco elevado e 32% risco muito elevado.

Tabela 1. Características clínicas e antropométricas da população estudada.

N	201
Idade, anos	84 ± 3
Gênero Masculino, %	22
IMC, Kg/m ²	25,7 ± 4,3
Circunferência Abdominal, cm	94 ± 12
Gordura Corporal, %	36 ± 6
Pressão arterial sistólica, mmhg	147 ± 18
Pressão arterial diastólica, mmhg	76 ± 11
Frequência cardíaca, bpm	71 ± 12
HAS, %	76
Diabéticos tipo 2, %	23
Síndrome metabólica, %	55
Tabagistas, %	3
Ativos fisicamente segundo OMS, %	26
Uso de sinvastatina, %	38
Uso de ezetimiba, %	8
Uso de fibrato, %	1
Uso de betabloqueadores, %	20
Uso de bloqueadores de canais de cálcio, %	37
Uso de diurético, %	45
Uso de antiagregante plaquetário, %	31
Uso de bloqueadores de receptores de angiotensina, %	56

HAS= Hipertensão Arterial Sistêmica; IMC= Índice de Massa Corpórea.

Variáveis paramétricas (média ± desvio-padrão).

Variáveis não-paramétricas: mediana (intervalo interquartil).

Na Tabela 2 estão demonstradas as características metabólicas e de ingestão de zinco da população estudada. A média de valores de triglicerídeos, colesterol total, HDL-colesterol, LDL-colesterol e zinco plasmático apresentaram-se dentro dos valores aceitáveis. O consumo mediano de zinco na população estudada

apresentou-se dentro da ingestão recomendada (mediana de 108,5% de adequação de consumo)[82], com mediana de ingestão dietética de 9,9mg ao dia.

Tabela 2. Características metabólicas e alimentar da população estudada.

Variável	
Glicemia, mg/dL	101 ± 18
HbA1c, %	5,9 ± 0,42
Proteínas totais, g/dL	7,3 ± 0,35
Albumina, g/dL	4,4 ± 0,21
Apolipoproteína A, mg/dL	151 ± 19
Apolipoproteína B, mg/dL	80 ± 22
Triglicerídeos, mg/dL	117 ± 62
Colesterol total, mg/dL	192 ± 42
HDL – Colesterol, mg/dL	55 ± 11
LDL – Colesterol, mg/dL	108 ± 37
PCR, mg/L	1,9 (1,5)
Sódio, mEq/L	142 ± 3
Fósforo, mg/dL	3,3 ± 0,5
Potássio, mEq/L	4,2 ± 0,5
Magnésio, dL	2,2 ± 0,2
Zinco mg/dl	100 ± 16
MDRD simplificada, mL/min /1.73m ²	71 ± 22
Uréia, mg/dL	41±12
Creatinina, mg/dL	0,96 ± 0,32
Ácido úrico, mg/dL	5,1±1,3
Ingestão Alimentar	
Ingestão dietética de zinco, mg	9,9 (6,8)
Doença Aterosclerótica Subclínica	
IMT médio CCD	0,8 (0,158)
IMT médio CCE	0,85 (0,156)
Presença de placas ateroscleróticas, %	22
CAC por Agatston	95(512)

CAC= Calcificação Arterial Coronariana; HbA1c = Hemoglobina Glicada ; HDL = Lipoproteína de Alta Densidade; IMT= Espessamento Médio Intimal; LDL = Lipoproteína de Baixa Densidade; MDRD= Modification of Diet in Renal Disease (MDRD) Study equation.

Variáveis paramétricas (média ± desvio-padrão).

Variáveis não-paramétricas: mediana (intervalo interquartil).

5.2 Características da população estudada segundo a concentração do Zinco plasmático

A Tabela 3 mostra as características clínicas, dietéticas e antropométricas dos participantes agrupados em tercís dos níveis plasmáticos de zinco. Não houve diferença significativa entre os grupos quanto às características clínicas e antropométricas, tais como idade, sexo, tabagismo, atividade física, diagnóstico de diabetes Mellitus, IMC, gordura corporal e níveis de pressão arterial sistólica (PAS) e pressão arterial diastólica (PAD).

Além disso, não foi observada diferença significativa entre o consumo de zinco nos diferentes tercís. A ingestão média de zinco variou entre 3.3 a 52.2mg/dia ou entre 42 a 505% de adequação quanto à ingestão diária recomendada (11mg para homens e 8mg para mulheres [82]. Trinta e um participantes relataram a ingestão de suplementos alimentares contendo zinco. Nestes indivíduos, a ingestão total de zinco foi maior do que nos demais participantes ($20,5 \pm 10,1$ vs $8,8 \pm 3,1$ mg / dia, $p < 0,001$). O uso do suplemento de zinco aumentou o consumo médio desse nutriente em 7,0 (0,5) mg/dia. Nenhum dos participantes com ingestão dietética de zinco superior à recomendação apresentou níveis plasmáticos de zinco abaixo dos valores de ponto de corte de referência (70-72 $\mu\text{g/dL}$) [143]. Dentre os indivíduos que apresentaram uma ingestão dietética inferior à recomendação, apenas 5,4% possuíam níveis plasmáticos de zinco abaixo do valor de referência. A razão entre os valores de plasma e a ingestão diária de zinco foi calculada, a fim de inferir a absorção de zinco na dieta. A relação de zinco plasmático/ ingestão de zinco aumentou significativamente entre o aumento tercís de zinco no plasma (Tabela 3). Este índice foi inversamente correlacionado com os níveis de PCR no plasma ($-0,18$, $p = 0,01$). Apesar disso, a média de ingestão dietética diária para o zinco não

apresentou correlação significativa com os níveis de zinco plasmático mesmo após o ajuste para idade, gênero e níveis plasmáticos de PCR ($p=0,5$).

Tabela 3. Características clínicas, dietéticas e antropométricas segundo o nível de zinco plasmático.

Características	1º Tercil	2º Tercil	3º Tercil	p
Clínicas				
Zinco plasmático, µg/dL	81 ± 10	100 ± 4	120 ± 16	
Tamanho amostral	69	66	66	
Idade, anos	85 ± 5	84 ± 3	84 ± 4	0.06
Sexo masculino, %	23	27	15	0.25
Tabagismo, n [%]	0	4[2.5]	1[1.5]	0.10
Sedentarismo, n [%]	52[82]	43[67]	47[70]	0.11
Hipertensão, n [%]	51[77]	46[69]	56[81]	0.22
PA Sistólica, mmHg	144 ± 20	147 ± 22	144 ± 19	0.79
PA Diastólica, mmHg	75 ± 11	76 ± 11	74 ± 11	0.12
Frequência cardíaca, bpm	76 ± 12	73 ± 12	71 ± 10	0.08
Diabetes Mellitus, n [%]	19 [29]	15 [22]	13[19]	0.34
Síndrome metabólica, n [%]	39[59]	33[50]	39[57]	0.55
Uso de estatina, %	46	33	35	0.21
Antropométricas				
Circunferência abdominal, cm	93 ± 13	91 ± 13	94 ± 10	0.23
Índice de massa corpórea, Kg/m ²	27 ± 6	25 ± 4	26 ± 4	0.18
Gordura Corporal, %	35 ± 6	37 ± 6	36 ± 7	0.064
Ingestão Alimentar				
Ingestão dietética de zinco, mg	11.3 ± 6.8	12.0 ± 9.4	10.3 ± 5.6	0.75
Razão Zinco plasmático/Ingestão de zinco	8.9 ± 3.9	11.7 ± 6.1	14.1 ± 6.4	0.001

PA= Pressão Arterial.

Variáveis paramétricas (média ± desvio-padrão).

Variáveis não-paramétricas: mediana (intervalo interquartil).

Os grupos também se assemelhavam quanto às características laboratoriais, exceto para o nível de PCR plasmático e leucócitos, onde foi observada uma diferença significativa entre os diferentes tercís. Indivíduos integrantes do último tercil apresentavam níveis plasmáticos de PCR e de leucócitos menores (Tabela 4).

Tabela 4. Características laboratoriais segundo o nível plasmático de zinco.

Características	1º Tercil	2º Tercil	3º Tercil	p
Laboratoriais				
Zinco, µg/dL	81 ± 10	100 ± 4	120 ± 16	
Hb glicada (HbA1c), %	6.4 ± 1.6	6.0 ± 0.6	6.2 ± 1.0	0.18
Glicose mg/dL	110 ± 50	99 ± 20	103 ± 43	0.25
Colesterol total, mg/dL	196 ± 42	201 ± 41	198 ± 40	0.78
HDL-c, mg/dL	55 ± 14	53 ± 14	56 ± 13	0.55
LDL-c, mg/dL	110 ± 36	117 ± 38	115 ± 36	0.54
Triglicerídeos, mg/dL	125 ± 51	136 ± 66	121 ± 50	0.27
Apolipoproteína A, mg/dL	149 ± 27	148 ± 23	155 ± 33	0.22
Apolipoproteína B, mg/dL	85 ± 23	91 ± 28	83 ± 23	0.20
PCR, mg/L	2.0(2.0)	1.7(2.0)	1.4(1.5)	0.01
Leucócitos, cels,mm	6562 ± 1499	6213 ± 1472	6127 ± 1706	0,002

HbA1c = Hemoglobina Glicada ; HDL = Lipoproteína de Alta Densidade; LDL = Lipoproteína de Baixa Densidade; PCR= Protenía C Reativa.

Variáveis paramétricas (média ± desvio-padrão).

Variáveis não-paramétricas: mediana (intervalo interquartil).

5.3 Características da Doença Aterosclerótica coronariana e carotídea, da Doença Arteriosclerótica e Função Endotelial segundo a concentração do Zinco plasmático

Conforme observado na Tabela 5, não foi observada diferença significativa entre os valores de calcificação arterial coronariana (CAC) ($p=0,2$) nos diferentes tercís de zinco plasmático. Assim como, não foi observada diferença significativa nos valores de IMT carotídea nos diferentes tercís, mesmo após o ajuste para idade, gênero, presença de diabetes, hipertensão e taxa de filtração glomerular.

Da mesma forma, não foram observadas diferenças significantes entre os grupos para a DFM, a frequência de placa carotídea, a presença de placas coronarianas remodeladas ou de placas coronarianas não calcificadas de baixa atenuação, a complacência arterial carotídea, o índice de rigidez carotídea e o modelo de elasticidade de Young. Os resultados permaneceram estatisticamente insignificantes mesmo após separarmos os indivíduos de acordo com seus valores de zinco plasmáticos superiores ou inferiores ao ponto de corte de referência.

Tabela 5. Características da doença aterosclerótica, arteriosclerótica e função endotelial segundo o nível plasmático de zinco.

Características	Zinco plasmático			
	1º Tercil	2º Tercil	3º Tercil	p
IMT médio	0.83±0.11	0.86±0.13	0.83±0.13	0,36
CAC, Agatston	166(361)	176 (461)	114(414)	0.2
Participantes com placas carotídeas, n [%]	14[70]	14[70]	18[82]	0.60
Participantes com placas coronarianas não calcificadas de baixa atenuação, n [%]	25[50]	30[55]	27[49]	0.83
Participantes com placas calcificadas,%	84,9	84,5	83,9	0,71
Participantes com placas coronarianas remodeladas, n [%]	22[44]	26[47]	24[44]	0.91
Participantes com placas mistas, %	45,1	47	48,1	0,46
Índice de rigidez carotídea	18(31)	11(15)	16(21)	0.53
Modelo de elasticidade de Young, mmHg . mm	1262(2453)	1048(1222)	1197(1668)	0.44
Complacência arterial carotídea, %/10 mmHg	0.74(0.70)	0.82(0.70)	0.89(0.80)	0.34
DFM,%	3.4 (5.9)	6.1 (6.7)	4.3 (5.6)	0.26

CAC= Calcificação Arterial Coronariana; DFM=Dilatação Fluxo Mediada, IMT= Espessamento Médio Intimal ;
 Variáveis paramétricas (média ± desvio-padrão).
 Variáveis não-paramétricas: mediana (intervalo interquartil).

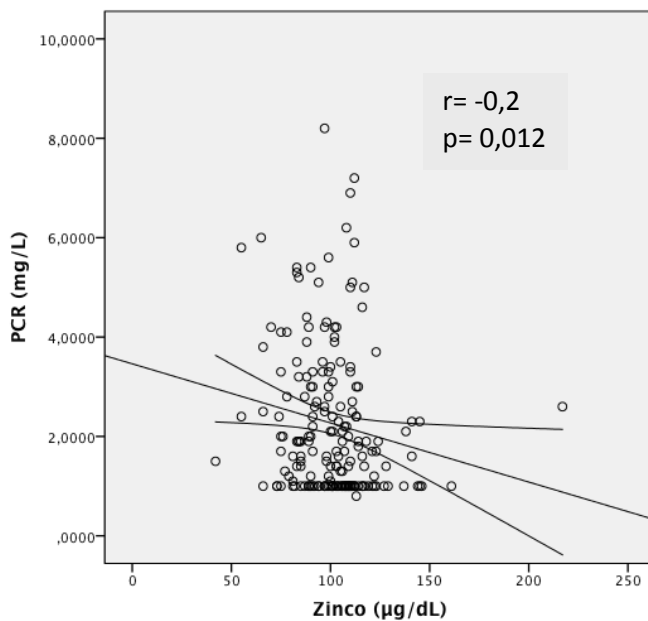
5.4 Análise univariada da associação entre a atividade inflamatória sistêmica medida por PCR e concentração plasmática de zinco

Com a finalidade de verificar a natureza da associação entre o nível plasmático de zinco e a atividade inflamatória estimada pela PCR, realizamos gráficos de dispersão com regressões linear simples e não linear. Conforme a Figura 4, observou-se uma associação negativa significativa entre esses dois parâmetros. Segundo essas associações, o nível plasmático de PCR diminuiu significativamente à medida que houve aumento no nível plasmático de zinco. Embora na regressão

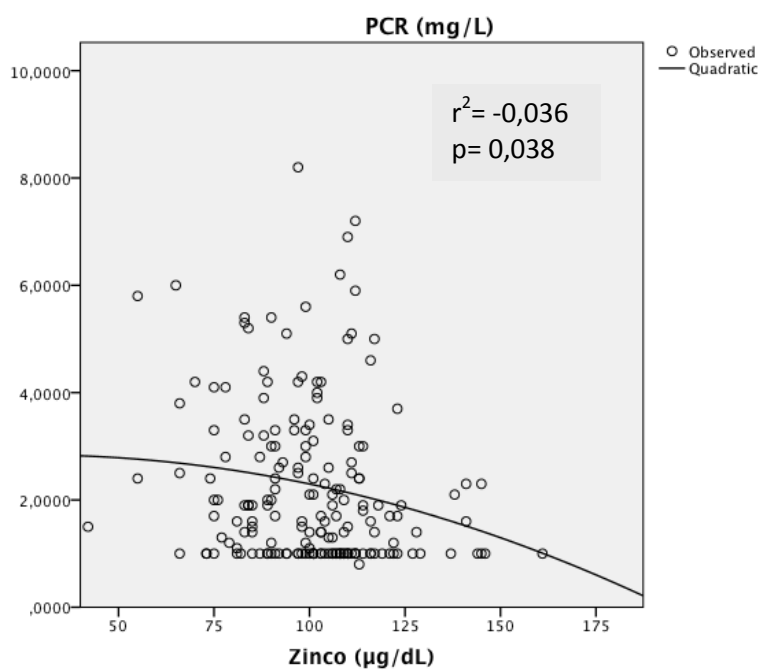
linear a associação tenha sido significativa ($r=-0,2$; $p=0,012$), a avaliação do melhor ajuste à curva indicou a regressão quadrática como melhor modelo ($r^2=0,036$; $p=0,038$; $Y = 6,88.X^2 + -0,0016.X + 1,085513$).

Figura 4. Regressão linear (A) e não linear (B) da associação entre o zinco plasmático e a atividade inflamatória estimada pela PCR

A



B



5.5 Análise multivariada da associação entre a atividade inflamatória sistêmica medida por PCR e concentração plasmática de zinco

A análise de regressão logística ordinal multivariada foi realizada, agrupando-se os níveis de PCR e de zinco plasmático em tercís, com o intuito de se avaliar a associação entre as categorias de PCR em todos os níveis de zinco plasmático, usando como o grupo de referência o menor tercil. O tercil superior de zinco apresentou uma associação direta com a PCR [RC= 0,45 (95 % IC= 0,23 -0,87), p= 0,018] no modelo não ajustado (Modelo 1). A associação manteve-se significativa mesmo após os ajustes para idade e sexo (modelo 2), adicionalmente para HAS, DM, taxa de filtração glomerular e níveis plasmáticos de APO B (modelo 3), uso de estatinas (modelo 4) e para idade, sexo, pressão arterial sistólica, pressão arterial diastólica, HbA1c, taxa de filtração glomerular e uso de estatinas (modelo 5).

Tabela 6. Regressão ordinal considerando como variável dependente os tercís da PCR plasmática ($\leq 1,1$; 1,2 a 2,4 e $> 2,4$ mg/L).

	1º Tercil	2º Tercil	3º Tercil
Plasma Zinc	<92 µg/dL	92-107 µg/dL	>107 µg/dL
	N=60	N=61	N=64
Modelo 1	Grupo	0.72 (0.37-1.40)	0.45 (0.23-0.87)
	Referência	P=0.335	P=0.018
Modelo 2	Grupo	0.83 (0.42-1.64)	0.50 (0.25-0.97)
	Referência	P=0.59	P=0.041
Modelo 3	Grupo	0.84 (0.42-1.67)	0.46 (0.23-0.90)
	Referência	P=0.61	P=0.024
Modelo 4	Grupo	0.88 (0.44-1.76)	0.50 (0.25-0.99)
	Referência	P=0.71	P=0.049
Modelo 5	Grupo	0.81 (0.40-1.63)	0.54 (0.27-0.98)
	Referência	P=0.55	P=0.04

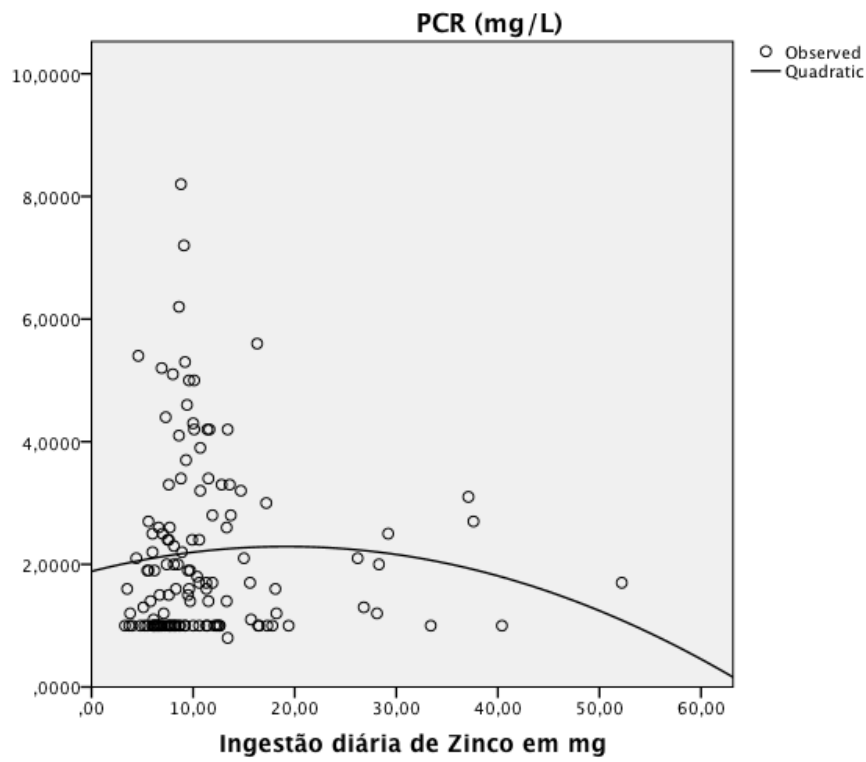
Modelo 1: Não ajustado; Modelo 2: ajustado para idade e sexo; Modelo 3: ajustado para idade, sexo, Hipertensão, diabetes, taxa de filtração glomerular e Apo B plasmático; Modelo 4: ajustado para idade, sexo, Hipertensão, diabetes, taxa de filtração glomerular e uso de estatinas; e Modelo 5: ajustado para idade, sexo, pressão arterial sistólica, pressão arterial diastólica, HbA1c, taxa de filtração glomerular e uso de estatinas.

5.6 Análise univariada da associação entre a ingestão de zinco e a atividade inflamatória sistêmica medida por PCR e zinco plasmático

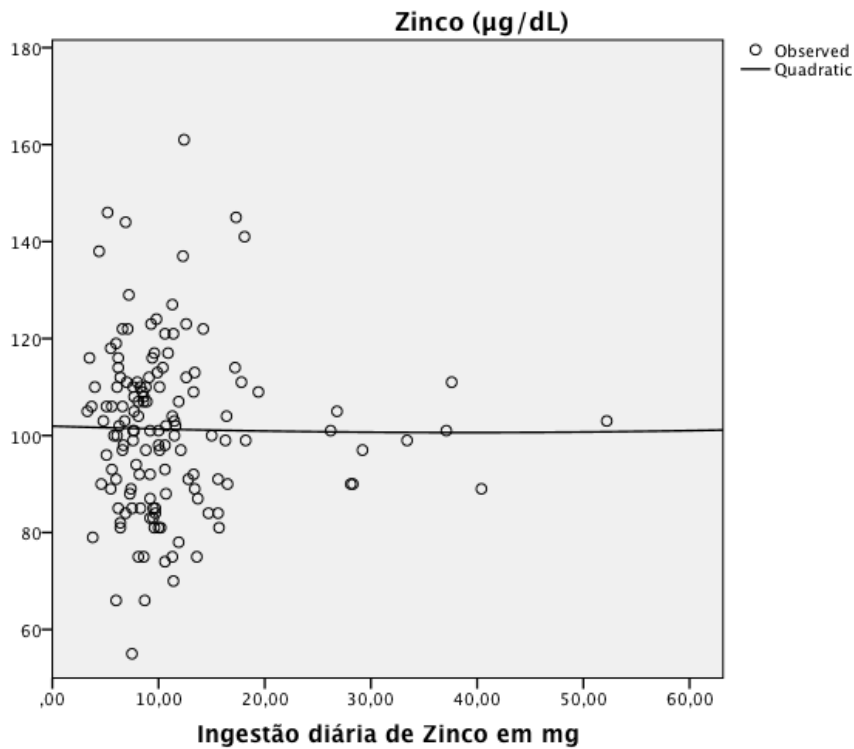
Quando avaliamos a associação da ingestão diária de zinco estimada pelo questionário de frequência alimentar semi-quantitativo, associado ao uso de suplemento nutricional, não observamos associação linear ($r=-0,02$; $p=0,76$) ou quadrática ($r^2=0,007$; $p=0,6$) com a atividade inflamatória estimada pela PCR (Figura 5A) ou com os níveis plasmáticos do Zinco ($r=-0,013$; $p=0,88$) (Figura 5B).

Figura 5. Regressão não linear da associação entre a ingestão do zinco e a atividade inflamatória estimada pela PCR (A) e zinco plasmático (B).

A



B



6. Discussão

O presente estudo confirma uma associação significativa entre os níveis de zinco no plasma e atividade inflamatória sistêmica mediada pela PCR, no entanto, não foi observada relação entre o zinco plasmático e as propriedades estruturais e funcionais da parede arterial. Além disso, não houve associação significativa entre o consumo médio diário e a concentração plasmática de zinco.

6.1 Caracterização da população estudada

A predominância do sexo feminino na população estudada confirma a maior expectativa de vida nas mulheres, observada nas projeções oficiais para o ano de 2050 [25]. Essa característica tem sido atribuída à menor exposição a alguns fatores de risco como tabagismo, ingestão alcoólica, diferenças quanto à atitude em relação a doenças e incapacidades, além da maior procura pela assistência à saúde [144].

A obesidade vem aumentando entre os idosos nas últimas décadas, tendo sido detectado prevalência de 30% na população geriátrica ambulatorial brasileira [145]. As tendências de ganho de peso com o envelhecimento variam de acordo com o sexo, ocorrendo com aumento de peso até aproximadamente os 65 anos nos homens e 75 anos nas mulheres, com posterior redução da massa corporal [146]. Apesar de haver redução de peso com o avanço da idade, estudos apontam um aumento no número de idosos obesos acima de 80 anos [147].

No presente estudo, a frequência de indivíduos com excesso de peso foi semelhante às prevalências descritas na literatura, sendo detectados 34% de idosos com sobrepeso e 20% obesos, segundo os pontos de corte preconizados pela OMS. Dados do VIGITEL - Vigilância de Fatores de Risco e Proteção para Doenças

Crônicas por Inquérito Telefônico do ano de 2011- mostraram uma prevalência de obesidade (IMC $>30\text{Kg/m}^2$) para população idosa do DF próxima à observada no presente estudo, equivalente à 17%, presente em 11,9% dos homens e 22% das mulheres. Com relação ao baixo peso, quando se utiliza a referência da OMS, nota-se percentual inferior a 5%, limite compatível com a proporção populacional de indivíduos constitucionalmente magros, indicando não exposição à desnutrição.

Os dados relatados assemelham-se aos resultados obtidos em um estudo multicêntrico; Projeto SABE- Saúde, Bem-Estar e Envelhecimento; realizado com apoio da OPAS em Buenos Aires (Argentina), Bridgetown (Barbados), São Paulo (Brasil), Santiago (Chile), Havana (Cuba) e Cidade do México (México), com a amostra da população acima de 60 anos. Na sub-amostra com 2.143 idosos (de 60 anos ou mais) do município de São Paulo, obteve-se, amostra de 59,35% de mulheres e 40,65% de homens, com idade média de $74,2 \pm 8,4$ anos e IMC médio de $26,21 \pm 4,57 \text{ kg/m}^2$. Semelhante ao presente estudo, o estudo SABE evidenciou 43% dos idosos com peso normal, sendo que as prevalências de baixo peso, sobrepeso e obesidade foram de 24,1%, 12,1% e 20,8%, respectivamente [148].

Resultados semelhantes também são observados na literatura internacional. Um estudo realizado com 923 italianos (65 anos e mais) de ambos os sexos, encontrou proporção de obesidade (IMC maior do que 30 kg/m^2) muito próxima (24,6%) a obtida no presente trabalho. Entretanto, a frequência de baixo peso (IMC menor do que $18,5 \text{ kg/m}^2$) apresentou-se menor (0,4%) [149]. No estudo *The University of Alabama at Birmingham (UAB) Study of Aging*, realizado com 416 idosos e idade média de $76,8 \pm 5,2$ anos, foi observado um IMC médio de $28,3 \pm 5,4$ e $28,3 \pm 6,2 \text{ kg/m}^2$ para homens e mulheres, respectivamente ($p=0.94$) [150].

Diferentes pontos de corte são adotados para classificação do estado nutricional e para correlação com a mortalidade em idosos. Grande parte dos

estudos que avaliam o estado nutricional de idosos por meio do IMC, em especial aqueles internacionais e de base populacional, optam pelos pontos de corte recomendados pela OMS [127]. No entanto, estudos apontam uma menor correlação entre IMC e mortalidade em idosos em comparação a pessoas jovens, [151-153], possivelmente devido às alterações corporais do envelhecimento ou pelo fato de idosos já serem sobreviventes, tendo aqueles mais suscetíveis a esse fator de risco morrido anteriormente. Em uma revisão sistematizada, níveis de IMC entre 25 e 27 Kg/m² não foram considerados fator de risco para mortalidade cardiovascular e morte por todas as causas na população idosa de ambos os gêneros, ao contrário do mostrado para jovens e pessoas de meia-idade [154].

Diante disso, Lipschitz [128] considera excesso de peso os idosos com níveis de IMC acima de 27kg/m². Indivíduos com IMC entre 22 e 27kg/m² apresentam peso adequado e aqueles com IMC inferior à 22kg/m² são enquadrados no diagnóstico de magreza. No presente estudo, ao se adotar o critério acima mencionado, a proporção de indivíduos com excesso de peso caiu para 38% da amostra, no entanto ainda expressiva. Diante disso, vários autores optam por não usar a classificação de excesso de peso e somente classificar os idosos em relação à obesidade (ou seja, IMC maior do que 30kg/m²).

Em um estudo com muito idosos (acima de 80 anos) não institucionalizados, com características semelhantes a do presente estudo e média de idade de 85,7 ± 4,4 anos, também foi encontrada elevada prevalência de excesso de peso e obesidade. Nesse estudo, 15% dos entrevistados apresentaram baixo peso (IMC menor do que 22 kg/m²), 41% eram eutróficos (IMC entre 22,0 e 26,9kg/m²), 19% apresentavam sobrepeso (IMC entre 27,0 e 29,9kg/m²) e 25% foram classificados como obesos (IMC maior do que 30kg/m²)[147].

O estudo de Silveira *et al* (2009) [155] indicou prevalências elevadas de excesso de peso nos idosos de Pelotas-RS, tanto utilizando a referência da OMS (2000), quanto a de Lipischitz (1994) [128].

O envelhecimento associa-se, também, ao aumento da adiposidade corporal total, que pode ocorrer independentemente das alterações ponderais. Observa-se, ainda, a redistribuição dessa adiposidade, com aumento da gordura intra-abdominal, visceral intramuscular, além da deposição gordurosa nos músculos cardíacos, no fígado e na medula óssea [156]. Em combinação com o ganho de adiposidade corporal, há o decréscimo da massa livre de gordura, composta pela musculatura esquelética, órgãos, pele e ossos[157]. O excesso de peso demonstrado pelo IMC na população estudada é confirmado pela frequência elevada de participantes com percentual de gordura corporal superior ao ponto de corte aceitável, refletindo o acúmulo de gordura corporal característico para a faixa etária estudada.

Embora seja esperado que nos idosos ocorra perda de peso com o avanço da idade [146], devido ao declínio ponderal causado pelo decréscimo de massa muscular, dos fluidos corporais e do peso das vísceras, é notável a progressão da redistribuição da adiposidade abdominal, mesmo concomitante à perda de peso, e a manutenção do risco cardiovascular em idades avançadas [156]. Tal fato foi evidenciado na presente investigação, na qual idosos apresentaram proporções consideráveis de alto risco cardíaco, medido pela CA. Essa proporção foi maior nas participantes do sexo feminino. De acordo com a literatura, o sobrepeso e a obesidade geral (indicada pelo IMC) e central (indicada pela CA) tendem a ocorrer mais em mulheres idosas do que nos homens [158, 159], devido à maior quantidade de gordura corporal e maior acúmulo de adiposidade visceral no sexo feminino, influenciados em parte, pela menopausa e pela maior expectativa de vida das mulheres [25].

A frequência elevada de hipertensos na amostra estudada (76%) supera a prevalência encontrada na população geral, que varia de 22% a 44% [160], além de superar a prevalência encontrada na população idosa brasileira de 59,7%, de acordo com os dados do VIGITEL [161].

A frequência de indivíduos hipertensos foi também superior à observada no estudo de base populacional SABE. Nesse estudo foi encontrada prevalência de hipertensão referida de 55% em indivíduos com idade superior a 75 anos na cidade de São Paulo [158]. Em contrapartida, a frequência de idosos hipertensos encontrada no corrente estudo assemelha-se àquela observada em idosos americanos (70,8%), sendo mais frequente em mulheres [162]. É esperada uma elevada prevalência de idosos hipertensos, uma vez que a pressão sistólica tende a aumentar com a idade. Existe relação direta e linear entre a pressão arterial e a idade, podendo a prevalência de HAS ser superior a 60% na faixa etária acima de 65 anos [160].

Quanto à média das aferições da pressão arterial sistólica e diastólica, foi observada uma média de PA sistólica superior a 140 mmHg e uma média de PA diastólica inferior a 90 mmHg, fato esse já esperado na população geriátrica, sugerindo uma tendência à hipertensão sistólica isolada [160]. Estudos longitudinais e transversais confirmam que, mesmo nos idosos, a hipertensão sistólica, por si ou combinada com a pressão diastólica elevada, continua sendo um importante fator preditivo da mortalidade e morbidade cardiovasculares [160].

Além disso, uma maior prevalência de HAS também tem relação direta com o sobrepeso [163]. De fato, segundo a V Diretriz Brasileira de Hipertensão Arterial, o excesso de peso é um fator predisponente para a hipertensão, podendo ser responsável por 20% a 30% dos casos de HAS. No presente estudo foi observada uma elevada prevalência de excesso de peso.

Foi observada também elevada frequência de Diabetes Mellitus (23%) quando comparados à população geral (10 a 15%) [141], mas semelhante à população de idosos brasileira (21%), de acordo com os dados mais recentes do VIGITEL de 2011 [161]. A frequência de participantes diabéticos do presente estudo também foi superior àquela observada no estudo SABE (15,7%), considerando os indivíduos com idade superior a 75 anos [164]. Dados americanos revelam uma prevalência de diabetes em idosos de 20,7 %, semelhante à observada na presente coorte.

A frequência de SM (55%) foi superior àquela encontrada em estudo brasileiro, realizado na cidade de Novo Hamburgo (RS), utilizando-se os critérios do NCEP- ATP III (50,3%), e inferior quando se adotou os critérios da IDF (56,9%) [165]. Não foram encontrados estudos representativos da prevalência da síndrome metabólica na população brasileira. Na literatura internacional foi observada uma grande variação da prevalência de SM em idosos [166-168], em função provavelmente do perfil da população estudada e do critério de classificação adotado. Os resultados encontrados no presente estudo são consistentes com o aumento da prevalência de DCNT na população idosa, que se manifesta de forma mais expressiva nas idades mais avançadas.

Em contraste, foi observado pouco tabagismo quando comparado à população de idosos brasileira (8,7%) [161] e baixo sedentarismo. A frequência de idosos ativos na amostra estudada foi de 26%, superando a média nacional para indivíduos acima de 65 anos, segundo a Pesquisa Nacional por Amostras de Domicílios (PNAD)[169]. Nessa pesquisa foram considerados indivíduos ativos aqueles que praticavam atividades de intensidade leve ou moderada por pelo menos 30 minutos diários em 5 ou mais dias da semana ou atividades de intensidade vigorosa por pelo menos 20 minutos diários em 3 ou mais dias da semana, os mesmos critérios preconizados pela OMS e adotados no presente estudo.

Os critérios de seleção determinaram uma amostra de indivíduos com níveis médios de HbA1c ($5,9 \pm 0,42$), de colesterol total (192 ± 42), de HDL- colesterol (55 ± 11), de triglicérides (117 ± 62) e de MDRD (71 ± 22) dentro dos valores de referência considerados adequados. A amostra selecionou indivíduos assintomáticos para doença cardiovascular, com perfil lipídico adequado, euglicêmicos e com preservada função renal.

No presente estudo, a quantidade média de zinco plasmático da amostra estudada apresentou-se dentro do padrão de normalidade, o que sugere um bom *status* nutricional desse nutriente [170, 171]. Embora não seja considerado o melhor indicador do estado nutricional de zinco, um grande número de evidências sugere que ele possa ser um indicador útil em estudos populacionais. Além disso, e é o único indicador com dados populacionais de referência para estimativa do estado nutricional relativo ao zinco [143].

Contraditoriamente ao resultado encontrado, estudos apontam que a população geriátrica possui um maior risco nutricional de deficiência desse elemento, em função de menor absorção e metabolismo desse nutriente [172], bem como pela baixa ingestão de zinco, como evidenciado em um amplo estudo epidemiológico realizado no continente europeu [173] e comprovado em estudos mais recentes [84, 174]. Logo, a deficiência nutricional de zinco é frequente em idosos[175].

No presente estudo, a ingestão dietética de zinco referida pela população estudada por meio do questionário de frequência alimentar semi-quantitativo apresentou-se adequada, estando dentro do percentual de adequação para idade e sexo (108,5 % da Quota Diária Recomendada- RDA) [82]. Para essa análise, foram incluídas a ingestão alimentar e de suplementos nutricionais. Em média, os suplementos dietéticos contribuem com 2,5 a 3,5mg da ingestão total de zinco na

população de adultos e idosos americanos [176]. A atual recomendação de consumo de zinco é de 8mg/dia para mulheres acima de 70 anos e 11mg/dia para homens acima de 70 anos [82]. A ingestão dietética de zinco na população estudada difere de dados observados na população geriátrica em geral. Segundo *The Third National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES)*, a ingestão de zinco diminuiu à medida que a idade avançou, e apenas 42,5% dos indivíduos participantes (com idade superior a 71 anos) apresentavam um consumo adequado desse nutriente (definido como $\geq 77\%$ da RDA) [16]. Dados mais recentes também revelam uma baixa ingestão dietética de zinco na população idosa [79, 83, 177].

Há que se destacar as limitações do método de inquérito dietético utilizado no presente estudo (QFA semi-quantitativo), embora não haja consenso sobre um instrumento de avaliação do consumo alimentar ideal, principalmente devido aos erros de aferição e a variabilidade intra e inter-individual de ingestão dietética [125].

O QFA é comumente usado em estudos epidemiológicos de nutrição, e apresenta vantagens consideráveis em termos de praticidade, economia e confiabilidade. Entretanto, sua utilidade pode ser limitada em função de sua inadequada utilização [125]. No presente estudo, optamos pela utilização desse método por considerá-lo mais adequado, econômico e factível, já que é conhecido que idosos tendem a preservar hábitos antigos da realização de refeições em casa, pelo aspecto sócio-cultural e pela afetividade relacionados a esse hábito, não invalidando o uso do QFA, uma vez que uma de suas limitações para utilização é o hábito de praticar refeições fora de casa [178].

Além disso, estudos apontam o uso do QFA como um método válido para avaliar a ingestão de minerais, em especial o zinco. Tem sido verificada uma boa correlação entre o QFA e outros métodos de avaliação da ingestão dietética de zinco (como por exemplo, o registro alimentar com pesagem dos alimentos), e essa

correlação aumenta quando é acrescentada a ingestão de suplementos nutricionais [125]. Além disso, todos os outros inquéritos dietéticos, tais como registro alimentar e recordatório de 24 horas utilizados em estudos epidemiológicos também possuem suas limitações [125].

6.2 Resposta inflamatória sistêmica e Zinco plasmático

A aterosclerose é uma doença inflamatória crônica [35], para qual a proteína C reativa (PCR), um marcador sensível de inflamação, tem se tornado um importante fator de risco. O papel da inflamação na DCV tem sido demonstrado em inúmeros estudos epidemiológicos por meio da associação entre os níveis elevados de PCR plasmática e o risco independente para eventos cardíacos futuros [66, 67]. Sendo assim, o papel anti-aterogênico do zinco inclui a diminuição da resposta inflamatória. Monócitos e macrófagos, que produzem esse marcador inflamatório, são sensíveis ao estado nutricional do zinco [9].

A deficiência de zinco tem implicação na patogênese das doenças ateroscleróticas e arterioscleróticas em função das propriedades anti-apoptóticas, anti-inflamatórias e antioxidantes desse mineral [9, 85, 96, 98]. O presente estudo verificou essa hipótese em uma população especialmente sujeita à deficiência de zinco e a doenças relacionadas à parede arterial, a dos muito idosos.

Estudos recentes demonstraram que uma baixa biodisponibilidade do zinco está associada ao aumento da secreção de citocinas inflamatórias, do estresse oxidativo, da disfunção e apoptose de células endoteliais [179]. Em concordância com essa afirmação, observamos uma associação significativa entre PCR e zinco plasmático. A associação manteve-se significativa mesmo após os ajustes para idade, sexo, HAS, DM, taxa de filtração glomerular, níveis plasmáticos de APO B,

uso de estatinas, pressão arterial sistólica, pressão arterial diastólica e HbA1c. A atividade inflamatória aumentada pode resultar de uma combinação de redução da ingestão de zinco e da desabsorção gastrointestinal. De fato, tem sido observado que o aumento dos níveis de PCR no plasma é preditivo para a redução da atividade de transportadores de zinco em indivíduos com diabetes mellitus tipo 2 [180]. O estado inflamatório crônico observado em indivíduos obesos também tem sido associado a uma redução nas taxas de transcrição de transportadores de zinco [181]. Em modelo animal, a desregulação epigenética da expressão dos transportadores de zinco característica do envelhecimento pode influenciar os níveis plasmáticos desse mineral, mesmo com a ingestão adequada de zinco [182].

O resultado encontrado no presente estudo está em consonância com estudos recentes que demonstraram uma correlação inversa entre os níveis sanguíneos de zinco e PCR [98, 106]. Murr *et al* [106] demonstraram uma correlação inversa entre a PCR e zinco sérico ($p < 0,0001$) em pacientes adultos submetidos a angiocoronografia. Em outro trabalho, também um sub-estudo da coorte *Ludwigshafen Risk and Cardiovascular Health* (LURIC) foi observada uma correlação negativa entre a concentração sérica de zinco e níveis plasmáticos de PCR, mesmo após o ajuste para idade, sexo e taxa de filtração glomerular [183].

Para o nosso conhecimento, esse é o primeiro trabalho que mostrou a associação entre o zinco plasmático e PCR em indivíduos muito idosos. A associação entre os níveis plasmáticos de zinco e PCR observada em nosso estudo possui plausibilidade biológica e é consistente com a hipótese de que um status nutricional de zinco mais adequado estaria associado a uma menor resposta inflamatória e assim menor risco para eventos cardíacos futuros [96].

6.3 Ingestão dietética de zinco e resposta inflamatória sistêmica

Embora alguns trabalhos apontem uma associação negativa entre o consumo de zinco e PCR plasmática [9, 112], nosso estudo não demonstrou tal associação. Bem como, foi observada uma fraca associação entre a ingestão diária de zinco e os níveis plasmáticos desse mineral.

A ingestão de zinco tem sido associada a menores concentrações de PCR plasmática, uma vez que níveis adequados de zinco levam a uma menor atividade do NF- κ B em células endoteliais, levando a uma expressão reduzida de inúmeros genes, incluindo o genes da PCR [98, 100].

Nesse contexto, Bao et al [9] demonstraram uma mudança significativa na concentração plasmática de PCRus ($p=0,015$) em idosos após 6 meses de suplementação com 45mg de zinco ao dia. Em contrapartida, no sub-estudo da coorte *MESA* foi observada uma associação positiva entre ingestão de zinco e concentração plasmática de PCR. Essa associação permaneceu significativa mesmo após os ajustes para ingestão de ferro, magnésio e gordura saturada [112]. Mas perdeu significância ao somar a ingestão de zinco proveniente de suplementos nutricionais, demonstrando a existência de possíveis fatores de confusão associados mais positivamente às concentrações de PCR do que com relação à ingestão de zinco por si [112].

Em nosso estudo, possíveis limitações podem ter contribuído para o resultado encontrado. Uma delas decorre da complexidade do estudo sobre alimentação e da dificuldade em isolar as associações individuais dos nutrientes. Os nutrientes são consumidos como parte de uma alimentação e cada alimento é uma mistura complexa de ingredientes delineados para a manutenção da vida, com elevado potencial sinérgico [184].

Além disso, embora estudos epidemiológicos apontem boa indicação do QFA como inquérito dietético, vale lembrar que esse instrumento possui suas limitações, incluindo a possibilidade de subestimar o consumo de alguns alimentos pelo fator memória. Além disso, há que se mencionar a limitação na avaliação da quantidade de zinco dietético por meio de tabelas de composição de alimentos, uma vez que este instrumento não leva em consideração a qualidade do composto mineral e as interações com outros elementos da alimentação, que podem alterar sua biodisponibilidade [185] e assim atenuar as associações estudadas.

A absorção de zinco em dietas mistas é de aproximadamente 30%, e é influenciada pela solubilidade dos compostos de zinco na dieta, pela presença de ligantes de baixo peso molecular, como os aminoácidos, peptídeos e o ácido picolínico, secretado pelo pâncreas, e pela competição do zinco com outros minerais por carreadores ou sítios de captação no intestino. Em dietas ricas em cereais integrais e leguminosas, que contêm teores elevados de fitatos, a absorção de zinco é menor que 15% [186].

Há ainda como possível justificativa o tamanho da amostra. Possivelmente com uma maior amostra essa dificuldade seria reduzida, com uma chance maior de discernimento entre as variáveis estudadas.

Apesar de existir forte associação entre o consumo de zinco e sua concentração em níveis plasmáticos [171], em nosso estudo, não foi observada tal associação. Estudos anteriores corroboram com esse achado. Cesat *et al.*[187] também não detectaram correlação entre o consumo de zinco e o zinco plasmático ($p > 0,05$).

Apesar de revisões sistemáticas apontarem que o zinco plasmático seja um bom parâmetro de *status* nutricional desse nutriente e se correlacionar com a ingestão dietética [170, 171], há trabalhos divergentes, os quais demonstram que o

zinco plasmático não é o melhor representante do status nutricional, não refletindo bem o seu consumo, pois há uma manutenção do nível plasmático em níveis normais às custas do zinco intracelular. E por esse motivo, esse último parâmetro seria o mais sensível [175]. Tal fato pode então justificar a falta de associação encontrada no corrente estudo.

Autores sugerem que status do zinco refletido pelos níveis de zinco intracelular e atividade do zinco representariam melhor a associação entre deficiência de zinco e efeitos adversos à saúde [188, 189].

6.4 A doença aterosclerótica subclínica e arteriosclerose segundo a concentração do Zinco plasmático

Aterosclerose é uma doença inflamatória crônica progressiva, caracterizada por lesões arteriais focais que podem levar à oclusão arterial, ocasionando angina, infarto agudo do miocárdio e morte súbita [12]. A deficiência de zinco tem sido associada ao desenvolvimento e progressão da aterosclerose, já que esse nutriente atua como um fator de proteção em função de suas atividades, antiinflamatórias e antioxidantes [105].

Por inferência, seria de esperar que os indivíduos que apresentassem níveis plasmáticos de zinco reduzidos também poderiam apresentar disfunção endotelial e aumento da carga aterosclerótica. Uma vez que a deficiência de zinco tem sido associada à rigidez da parede arterial em indivíduos jovens, bem como à atenuação da atividade das metaloproteinases e ao aumento da deposição de colágeno nas paredes arteriais [14, 190]. A arteriosclerose e a elevação da pressão arterial sistólica também seriam esperadas naqueles indivíduos com os níveis plasmáticos de zinco reduzidos. Contraditoriamente, em nosso estudo com indivíduos muito

idosos, a redução plasmática de zinco ou a ingestão de zinco diária não foram associadas a arteriosclerose e nem a aterosclerose das artérias carótidas ou coronárias.

Os resultados disponíveis na literatura apresentam-se controversos. Em uma coorte de 2048 sujeitos referenciados a realização de angiotomografia coronariana, com média de idade de $59,2 \pm 11,5$ anos, não foi observada correlação significativa entre os níveis plasmáticos de zinco e a extensão de doença arterial coronariana ou síndrome coronariana aguda [106]. Mesmo resultado foi observado por Giannoglou *et al* [17] em pacientes adultos também submetidos à angiografia coronariana.

Já em outro estudo, também realizado com indivíduos referenciados à angiotomografia de coronárias, a concentração sérica de zinco encontrada foi menor nos indivíduos com doença arterial coronariana diagnosticada em comparação aos indivíduos que apresentaram o exame dentro dos padrões de normalidade [191]. A mesma associação foi observada por Kazi *et al* [192] ao estudarem pacientes infartados. A concentração sérica de zinco foi menor nos pacientes infartados em comparação ao grupo controle ($p= 0,002$), e essa tendência era mais acentuada em indivíduos que tinham sofrido outros infartos previamente.

A despeito da participação do zinco na patogênese das doenças arteriais, tem sido demonstrado que esse metal possa prevenir a formação inicial de lesões ateroscleróticas, em particular pelo seu efeito antioxidante sobre as células endoteliais e sua ação anti-inflamatória [96, 193]. Estudos apontam que o zinco exerce um papel mais relevante nas fases iniciais da aterogênese do que na doença aterosclerótica já estabelecida [192, 194]. Em nosso trabalho não foi encontrada tal associação. É possível que haja entre a concentração de zinco plasmático e o início da doença aterosclerótica uma relação direta ou indireta não testada neste modelo.

A falta de associação entre os níveis plasmáticos de zinco e a doença aterosclerótica e arteriosclerótica, também descrita de forma semelhante em adultos jovens [17, 106], pode ser atribuída a algumas possíveis explicações. Primeiramente, as características que delimitam a longevidade nestes indivíduos podem contrabalancear os efeitos deletérios da deficiência de zinco. Em segundo lugar, a deficiência de zinco pode ser leve e/ou de curta duração e, conseqüentemente, insuficiente para gerar mudanças detectáveis na parede arterial. Qualquer que seja o mecanismo subjacente a esta falta de associação, é importante mencionar que não houve diferença na estrutura ou função da parede da artéria entre indivíduos que tinham ingestão diária de zinco abaixo de 42% da ingestão recomendada e aqueles que consumiam até a 5 vezes a recomendação. Consistentemente, no estudo the Physicians' Health Study II [195], a mesma incidência de eventos cardiovasculares foi encontrada em indivíduos com 50 anos ou mais de idade randomizados para ingestão de 11 mg / dia de suplemento de zinco ou placebo durante 11,2 anos.

6.5 Função Endotelial segundo a concentração do Zinco plasmático

Tem sido demonstrado que o endotélio não é uma camada inerte que cobre a superfície dos vasos. Ele pode inclusive ser considerado um órgão que produz substâncias e interage ativamente com a circulação sanguínea e com os tecidos subjacentes. Um endotélio saudável é capaz de inibir a adesão de plaquetas e leucócitos à superfície vascular e manter o equilíbrio entre atividade fibrinolítica e trombótica [44].

A disfunção endotelial é um evento inicial do desenvolvimento da placa aterosclerótica, mas estudos recentes mostram o papel inflamatório do endotélio em

todos os estágios da aterosclerose: início, progressão e complicao da placa avançada [35]. O aumento do estresse oxidativo está fortemente relacionado ao desenvolvimento da disfuno endotelial [196], assim situaoes de déficit de zinco proporcionariam um aumento do estresse oxidativo e maior risco de aterosclerose.

Neste trabalho, não foi observada diferença na funo endotelial entre diferentes tercis de zinco plasmático, o que sugeriu a não associao entre o zinco e a funo endotelial avaliada por meio da DFM.

7. Limitações

Algumas limitações devem ser consideradas na adequada interpretação dos resultados encontrados no corrente estudo. Primeiro, devido ao seu delineamento observacional, não é possível estabelecer uma relação de causa e efeito quanto à concentração de zinco plasmático e PCR, embora estudos apontem tal relação. Segundo, embora esteja estabelecido o efeito anti-inflamatório do zinco [9], não podemos descartar a possibilidade que alguns de nossos resultados ocorreram ao acaso. Além disso, a exclusão de possíveis fatores de confusão, como neoplasias e outras condições que poderiam representar um estímulo inflamatório, limitam a validade externa deste trabalho. E por fim, o estudo estende até a população de muito idosos, as evidências encontradas constantemente em indivíduos mais jovens.

No entanto, os resultados apresentados no corrente estudo são de grande importância, considerando a escassez de dados desta natureza, principalmente em relação à população de muito idosos brasileiros.

8. Conclusão

O presente trabalho mostrou, na população de indivíduos muito idosos, uma associação negativa e independente entre os níveis plasmáticos de zinco e atividade inflamatória, estimada pela PCR, mantida após os ajustes para possíveis fatores de confusão. Essa associação, entretanto, não teve qualquer efeito sobre as propriedades estruturais e funcionais da parede arterial.

Não foram identificadas associações entre o consumo de dietético de zinco e atividade inflamatória, estimada pela PCR, bem como, associação entre o consumo de zinco e a concentração plasmática desse nutriente.

Ainda não está bem esclarecido o efeito protetor do zinco nas doenças cardiovasculares. Há que se determinar se as diferenças encontradas nas concentrações desse elemento são simplesmente uma consequência da doença ou se realmente contribui diretamente em sua etiologia. É recomendada a realização de grandes coortes prospectivas para confirmarem nossas observações e estudos experimentais podem elucidar melhor o mecanismo biológico dessas associações.

9. Referências Bibliográficas

1. IBGE, *Perfil dos Idosos Responsáveis pelos Domicílios no Brasil 2000*. 2002: Rio de Janeiro. p. 97.
2. UN, *United Nations . World population prospects 1950-2050 – the 2004 revision*.
3. Yazdanyar, A. and A.B. Newman, *The burden of cardiovascular disease in the elderly: morbidity, mortality, and costs*. Clin Geriatr Med, 2009. **25**(4): p. 563-77, vii.
4. Fletcher, A.E. and C.J. Bulpitt, *Epidemiological aspects of cardiovascular disease in the elderly*. J Hypertens Suppl, 1992. **10**(2): p. S51-8.
5. Roger, V.L., et al., *Time trends in the prevalence of atherosclerosis: a population-based autopsy study*. Am J Med, 2001. **110**(4): p. 267-73.
6. Freitas, W.M., et al., *Atherosclerotic disease in octogenarians: a challenge for science and clinical practice*. Atherosclerosis, 2012. **225**(2): p. 281-9.
7. DelaRosa, O., et al., *Immunological biomarkers of ageing in man: changes in both innate and adaptive immunity are associated with health and longevity*. Biogerontology, 2006. **7**(5-6): p. 471-81.
8. Mocchegiani, E., et al., *Nutrient-gene interaction in ageing and successful ageing. A single nutrient (zinc) and some target genes related to inflammatory/immune response*. Mech Ageing Dev, 2006. **127**(6): p. 517-25.
9. Bao, B., et al., *Zinc decreases C-reactive protein, lipid peroxidation, and inflammatory cytokines in elderly subjects: a potential implication of zinc as an atheroprotective agent*. Am J Clin Nutr, 2010. **91**(6): p. 1634-41.
10. Fraker, P.J. and L.E. King, *Reprogramming of the immune system during zinc deficiency*. Annu Rev Nutr, 2004. **24**: p. 277-98.
11. Libby, P., *Inflammation in atherosclerosis*. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2012. **32**(9): p. 2045-51.
12. Hansson, G.K., *Inflammation, atherosclerosis, and coronary artery disease*. N Engl J Med, 2005. **352**(16): p. 1685-95.
13. Prasad, A.S., *Discovery of human zinc deficiency: its impact on human health and disease*. Adv Nutr, 2013. **4**(2): p. 176-90.
14. Khadiolkar, A.V., et al., *Metabolic risk factors and arterial stiffness in Indian children of parents with metabolic syndrome*. J Am Coll Nutr, 2012. **31**(1): p. 54-62.
15. Vlachopoulos, C., et al., *Negative association between serum levels of matrix metalloproteinases-2 and -9 and aortic stiffness in healthy adults*. Int J Cardiol, 2007. **122**(3): p. 232-8.
16. Briefel, R.R., et al., *Zinc intake of the U.S. population: findings from the third National Health and Nutrition Examination Survey, 1988-1994*. J Nutr, 2000. **130**(5S Suppl): p. 1367S-73S.
17. Giannoglou, G.D., et al., *Association of reduced zinc status with angiographically severe coronary atherosclerosis: a pilot study*. Angiology, 2010. **61**(5): p. 449-55.
18. Seet, R.C., et al., *Oral zinc supplementation does not improve oxidative stress or vascular function in patients with type 2 diabetes with normal zinc levels*. Atherosclerosis, 2011. **219**(1): p. 231-9.
19. Ghayour-Mobarhan, M., et al., *Serum zinc and copper status in dyslipidaemic patients with and without established coronary artery disease*. Clin Lab, 2008. **54**(9-10): p. 321-9.

20. Wong, L. and J. Carvalho, *O rápido processo de envelhecimento populacional do Brasil: sérios desafios para as políticas públicas*. . R. Bras. Est. Pop, 2006. **23**(1): p. 5-26.
21. IBGE, *Pesquisa Nacional por Amostra de Domicílios 2008*. 2008.
22. Kalache, A. and I. Keller, *The greying world: a challenge for the twenty-first century*. Sci Prog, 2000. **83 (Pt 1)**: p. 33-54.
23. PNUD. *Atlas Brasil 2013*. 2013 [cited 2013 16/08/2013]; Available from: http://www.pnud.org.br/IDH/Atlas2013.aspx?indiceAccordion=1&li=li_Atlas2013.
24. Nogueira SL, G.J., Machado JC, Ribeiro RCL, *Distribuição espacial e crescimento da população idosa nas capitais brasileiras de 1980 a 2006: um estudo ecológico*. . R Bras Est Pop., 2008. **25**(1): p. 195-198.
25. IBGE, *Projeção da População do Brasil por Sexo e Idade- 1980-2050. Estudos e Pesquisas: Informação Demográfica e Socioeconômica* in 24. 2008, IBGE: Rio de Janeiro.
26. Iliescu, M.L. and G. Zanoschi, [*Population aging and public health. The active aging concept*]. Rev Med Chir Soc Med Nat Iasi, 2005. **109**(1): p. 120-3.
27. Organization, W.H., *Keep fit for life:meeting the nutritional needs of older persons.*, WHO, Editor. 2002a, Geneva
28. Strazzullo, P., et al., *Salt intake, stroke, and cardiovascular disease: meta-analysis of prospective studies*. Bmj, 2009. **339**: p. b4567.
29. WHO, *World Health Organization. Ageing and Life Course. Department of Noncommunicable Diseases Prevention and Health Promotion. Noncommunicable Diseases and Mental Health Cluster. Life course perspectives on coronary heart disease, stroke and diabetes* 2001.
30. Lenfant, C., *Can we prevent cardiovascular diseases in low and middle-income countries?* . Bull World Health Organ, 2001. **79**: p. 980-2.
31. Roger, V.L., et al., *Heart disease and stroke statistics--2012 update: a report from the American Heart Association*. Circulation, 2012. **125**(1): p. e2-e220.
32. Go, A.S., et al., *Heart disease and stroke statistics--2013 update: a report from the American Heart Association*. Circulation, 2013. **127**(1): p. e6-e245.
33. WHO, *Life Expectancy*. Disponível em:http://www.who.int/gho/mortality_burden_disease/life_tables/en/index.html >. Acesso em 17/08/2013. 2011.
34. DATASUS, *Mortalidade proporcional por grupo de causas*. Disponível em: <http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/deftohtm.exe?sim/cnv/obt10uf.def> Acesso em 17/08/2013. , BRASIL. Ministério da Saúde.
35. Ross, R., *Atherosclerosis--an inflammatory disease*. N Engl J Med, 1999. **340**(2): p. 115-26.
36. Napoli, C., et al., *Fatty streak formation occurs in human fetal aortas and is greatly enhanced by maternal hypercholesterolemia. Intimal accumulation of low density lipoprotein and its oxidation precede monocyte recruitment into early atherosclerotic lesions*. J Clin Invest, 1997. **100**(11): p. 2680-90.
37. Mallika, V., B. Goswami, and M. Rajappa, *Atherosclerosis pathophysiology and the role of novel risk factors: a clinicobiochemical perspective*. Angiology, 2007. **58**(5): p. 513-22.
38. Rosenfeld, M.E., et al., *Macrophage-derived foam cells freshly isolated from rabbit atherosclerotic lesions degrade modified lipoproteins, promote oxidation of low-density lipoproteins, and contain oxidation-specific lipid-protein adducts*. J Clin Invest, 1991. **87**(1): p. 90-9.

39. van Oostrom, O., et al., *Age-related changes in plaque composition: a study in patients suffering from carotid artery stenosis*. *Cardiovasc Pathol*, 2005. **14**(3): p. 126-34.
40. Aw, D., A.B. Silva, and D.B. Palmer, *Immunosenescence: emerging challenges for an ageing population*. *Immunology*, 2007. **120**(4): p. 435-46.
41. Lelic, A., et al., *The polyfunctionality of human memory CD8+ T cells elicited by acute and chronic virus infections is not influenced by age*. *PLoS Pathog*, 2012. **8**(12): p. e1003076.
42. Olivieri, F., et al., *Toll like receptor signaling in "inflammaging": microRNA as new players*. *Immun Ageing*, 2013. **10**(1): p. 11.
43. Dewan, S.K., et al., *Senescent remodeling of the immune system and its contribution to the predisposition of the elderly to infections*. *Chin Med J (Engl)*, 2012. **125**(18): p. 3325-31.
44. Libby, P., P.M. Ridker, and G.K. Hansson, *Inflammation in atherosclerosis: from pathophysiology to practice*. *J Am Coll Cardiol*, 2009. **54**(23): p. 2129-38.
45. Solana, R., G. Pawelec, and R. Tarazona, *Aging and innate immunity*. *Immunity*, 2006. **24**(5): p. 491-4.
46. Yan, Z.Q. and G.K. Hansson, *Innate immunity, macrophage activation, and atherosclerosis*. *Immunol Rev*, 2007. **219**: p. 187-203.
47. Hansson, G.K., et al., *Innate and adaptive immunity in the pathogenesis of atherosclerosis*. *Circ Res*, 2002. **91**(4): p. 281-91.
48. Shalhoub, J., et al., *Innate immunity and monocyte-macrophage activation in atherosclerosis*. *J Inflamm (Lond)*, 2011. **8**: p. 9.
49. Hansson, G.K. and A. Hermansson, *The immune system in atherosclerosis*. *Nat Immunol*, 2011. **12**(3): p. 204-12.
50. Sansoni, P., et al., *The immune system in extreme longevity*. *Exp Gerontol*, 2008. **43**(2): p. 61-5.
51. Bakhireva, L.N., et al., *Differences in association of bone mineral density with coronary artery calcification in men and women: the Rancho Bernardo Study*. *Menopause*, 2005. **12**(6): p. 691-8.
52. McElhaney, J.E. and R.B. Effros, *Immunosenescence: what does it mean to health outcomes in older adults?* *Curr Opin Immunol*, 2009. **21**(4): p. 418-24.
53. Pawelec, G., A. Larbi, and E. Derhovanessian, *Senescence of the human immune system*. *J Comp Pathol*, 2010. **142 Suppl 1**: p. S39-44.
54. Dorrington, M.G. and D.M. Bowdish, *Immunosenescence and novel vaccination strategies for the elderly*. *Front Immunol*, 2013. **4**: p. 171.
55. Plackett, T.P., et al., *Aging and innate immune cells*. *J Leukoc Biol*, 2004. **76**(2): p. 291-9.
56. Solana, R., et al., *Innate immunosenescence: effect of aging on cells and receptors of the innate immune system in humans*. *Semin Immunol*, 2012. **24**(5): p. 331-41.
57. Panda, A., et al., *Human innate immunosenescence: causes and consequences for immunity in old age*. *Trends Immunol*, 2009. **30**(7): p. 325-33.
58. Shaw, A.C., et al., *Aging of the innate immune system*. *Curr Opin Immunol*, 2010. **22**(4): p. 507-13.
59. Weiskopf, D., B. Weinberger, and B. Grubeck-Loebenstien, *The aging of the immune system*. *Transpl Int*, 2009. **22**(11): p. 1041-50.
60. Olson, N.C., et al., *Decreased Naive and Increased Memory CD4(+) T Cells Are Associated with Subclinical Atherosclerosis: The Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis*. *PLoS One*, 2013. **8**(8): p. e71498.

61. Moura, F.A., W.M. Freitas, and A.C. Sposito, *Emergent cardiovascular risk factors in the very elderly*. *Expert Rev Cardiovasc Ther*, 2012. **10**(10): p. 1221-5.
62. Michaud, M., et al., *Proinflammatory Cytokines, Aging, and Age-Related Diseases*. *J Am Med Dir Assoc*, 2013.
63. Franceschi, C., et al., *Inflammaging and anti-inflammaging: a systemic perspective on aging and longevity emerged from studies in humans*. *Mech Ageing Dev*, 2007. **128**(1): p. 92-105.
64. Salvioli, S., et al., *Immune system, cell senescence, aging and longevity--inflamm-aging reappraised*. *Curr Pharm Des*, 2013. **19**(9): p. 1675-9.
65. Bjorkbacka, H., G.N. Fredrikson, and J. Nilsson, *Emerging biomarkers and intervention targets for immune-modulation of atherosclerosis - a review of the experimental evidence*. *Atherosclerosis*, 2013. **227**(1): p. 9-17.
66. Ridker, P.M., *C-reactive protein, inflammation, and cardiovascular disease: clinical update*. *Tex Heart Inst J*, 2005. **32**(3): p. 384-6.
67. Koenig, W., *High-sensitivity C-reactive protein and atherosclerotic disease: From improved risk prediction to risk-guided therapy*. *Int J Cardiol*, 2013.
68. Danesh, J., et al., *C-reactive protein and other circulating markers of inflammation in the prediction of coronary heart disease*. *N Engl J Med*, 2004. **350**(14): p. 1387-97.
69. Roberts, W.L., et al., *Evaluation of nine automated high-sensitivity C-reactive protein methods: implications for clinical and epidemiological applications. Part 2*. *Clin Chem*, 2001. **47**(3): p. 418-25.
70. Kaptoge, S., et al., *C-reactive protein concentration and risk of coronary heart disease, stroke, and mortality: an individual participant meta-analysis*. *Lancet*, 2010. **375**(9709): p. 132-40.
71. Gupta, N.K., et al., *The relationship between C-reactive protein and atherosclerosis differs on the basis of body mass index: the Dallas Heart Study*. *J Am Coll Cardiol*, 2012. **60**(13): p. 1148-55.
72. Hamirani, Y.S., et al., *Markers of inflammation and coronary artery calcification: a systematic review*. *Atherosclerosis*, 2008. **201**(1): p. 1-7.
73. Cushman, M., et al., *C-reactive protein and the 10-year incidence of coronary heart disease in older men and women: the cardiovascular health study*. *Circulation*, 2005. **112**(1): p. 25-31.
74. Quaglia, L.A., et al., *C-reactive protein is independently associated with coronary atherosclerosis burden among octogenarians*. *Aging Clin Exp Res*, 2013.
75. van der, A.D., et al., *Dietary haem iron and coronary heart disease in women*. *Eur Heart J*, 2005. **26**(3): p. 257-62.
76. Champagne, C.M., *Magnesium in hypertension, cardiovascular disease, metabolic syndrome, and other conditions: a review*. *Nutr Clin Pract*, 2008. **23**(2): p. 142-51.
77. Asplund, K., *Antioxidant vitamins in the prevention of cardiovascular disease: a systematic review*. *J Intern Med*, 2002. **251**(5): p. 372-92.
78. Nettleton, J.A., et al., *Dietary patterns are associated with biochemical markers of inflammation and endothelial activation in the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis (MESA)*. *Am J Clin Nutr*, 2006. **83**(6): p. 1369-79.
79. Iuliano, S., A. Olden, and J. Woods, *Meeting the nutritional needs of elderly residents in aged-care: are we doing enough?* *J Nutr Health Aging*, 2013. **17**(6): p. 503-8.

80. Prasad, A.S., et al., *Zinc supplementation decreases incidence of infections in the elderly: effect of zinc on generation of cytokines and oxidative stress*. Am J Clin Nutr, 2007. **85**(3): p. 837-44.
81. Vallee, B.L. and K.H. Falchuk, *The biochemical basis of zinc physiology*. Physiol Rev, 1993. **73**(1): p. 79-118.
82. *Institute of Medicine. Dietary Reference Intakes for Vitamin A, Vitamin K, Arsenic, Boron, Chromium, Copper, Iodine, Iron, Manganese, Molybdenum, Nickel, Silicon, Vanadium, and Zinc*. National Academy Press. 2001: Washington-DC.
83. Madej, D., et al., *Dietary intakes of iron and zinc assessed in a selected group of the elderly: are they adequate?* Rocznik Państwowy Higieny, 2013. **64**(2): p. 97-104.
84. Mocchegiani, E., A. Burkle, and T. Fulop, *Zinc and ageing (ZINCAGE Project)*. Exp Gerontol, 2008. **43**(5): p. 361-2.
85. Foster, M. and S. Samman, *Zinc and regulation of inflammatory cytokines: implications for cardiometabolic disease*. Nutrients, 2012. **4**(7): p. 676-94.
86. Prasad, A.S., *Clinical, immunological, anti-inflammatory and antioxidant roles of zinc*. Exp Gerontol, 2008. **43**(5): p. 370-7.
87. Prasad, A.S., et al., *Correction of interleukin-2 gene expression by in vitro zinc addition to mononuclear cells from zinc-deficient human subjects: a specific test for zinc deficiency in humans*. Transl Res, 2006. **148**(6): p. 325-33.
88. Prasad, A.S., et al., *Zinc deficiency: changes in cytokine production and T-cell subpopulations in patients with head and neck cancer and in noncancer subjects*. Proc Assoc Am Physicians, 1997. **109**(1): p. 68-77.
89. Prasad, A.S., *Zinc: mechanisms of host defense*. J Nutr, 2007. **137**(5): p. 1345-9.
90. Beck, F.W., et al., *Changes in cytokine production and T cell subpopulations in experimentally induced zinc-deficient humans*. Am J Physiol, 1997. **272**(6 Pt 1): p. E1002-7.
91. Haase, H., E. Mocchegiani, and L. Rink, *Correlation between zinc status and immune function in the elderly*. Biogerontology, 2006. **7**(5-6): p. 421-8.
92. Ibs, K.H. and L. Rink, *Zinc-altered immune function*. J Nutr, 2003. **133**(5 Suppl 1): p. 1452S-6S.
93. Mocchegiani, E., et al., *Zinc: dietary intake and impact of supplementation on immune function in elderly*. Age (Dordr), 2012. **35**(3): p. 839-60.
94. Vasto, S., et al., *Zinc and inflammatory/immune response in aging*. Ann N Y Acad Sci, 2007. **1100**: p. 111-22.
95. Ravaglia, G., et al., *Effect of micronutrient status on natural killer cell immune function in healthy free-living subjects aged ≥ 90 y*. Am J Clin Nutr, 2000. **71**(2): p. 590-8.
96. Beattie, J.H. and I.S. Kwun, *Is zinc deficiency a risk factor for atherosclerosis?* Br J Nutr, 2004. **91**(2): p. 177-81.
97. Beattie, J.H., et al., *Suboptimal dietary zinc intake promotes vascular inflammation and atherogenesis in a mouse model of atherosclerosis*. Mol Nutr Food Res, 2012. **56**(7): p. 1097-105.
98. Little, P.J., et al., *Zinc and cardiovascular disease*. Nutrition, 2010. **26**(11-12): p. 1050-7.
99. Bao, B., et al., *Zinc modulates mRNA levels of cytokines*. Am J Physiol Endocrinol Metab, 2003. **285**(5): p. E1095-102.
100. De Martin, R., et al., *The transcription factor NF-kappa B and the regulation of vascular cell function*. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2000. **20**(11): p. E83-8.

101. Giacconi, R., et al., *Pro-inflammatory genetic background and zinc status in old atherosclerotic subjects*. Ageing Res Rev, 2008. **7**(4): p. 306-18.
102. Mariani, E., et al., *Effects of zinc supplementation on antioxidant enzyme activities in healthy old subjects*. Exp Gerontol, 2008. **43**(5): p. 445-51.
103. Davis, S.R. and R.J. Cousins, *Metallothionein expression in animals: a physiological perspective on function*. J Nutr, 2000. **130**(5): p. 1085-8.
104. Herbein, G., A. Varin, and T. Fulop, *NF-kappaB, AP-1, Zinc-deficiency and aging*. Biogerontology, 2006. **7**(5-6): p. 409-19.
105. Hennig, B., et al., *Zinc nutrition and apoptosis of vascular endothelial cells: implications in atherosclerosis*. Nutrition, 1999. **15**: p. 744:8.
106. Murr, C., et al., *Low serum zinc levels in patients undergoing coronary angiography correlate with immune activation and inflammation*. J Trace Elem Med Biol, 2012. **26**(1): p. 26-30.
107. Nettleton, J.A., et al., *Dietary patterns and incident cardiovascular disease in the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis*. Am J Clin Nutr, 2009. **90**(3): p. 647-54.
108. Merchant, A.T., et al., *Interrelation of saturated fat, trans fat, alcohol intake, and subclinical atherosclerosis*. Am J Clin Nutr, 2008. **87**(1): p. 168-74.
109. Dauchet, L., et al., *Fruit and vegetable consumption and risk of coronary heart disease: a meta-analysis of cohort studies*. J Nutr, 2006. **136**(10): p. 2588-93.
110. Lee, D.H., A.R. Folsom, and D.R. Jacobs, Jr., *Iron, zinc, and alcohol consumption and mortality from cardiovascular diseases: the Iowa Women's Health Study*. Am J Clin Nutr, 2005. **81**(4): p. 787-91.
111. Yang, Y.J., et al., *Dietary zinc intake is inversely related to subclinical atherosclerosis measured by carotid intima-media thickness*. Br J Nutr, 2010. **104**(8): p. 1202-11.
112. de Oliveira Otto, M.C., et al., *Dietary micronutrient intakes are associated with markers of inflammation but not with markers of subclinical atherosclerosis*. J Nutr, 2011. **141**(8): p. 1508-15.
113. Fisberg, R.M., et al., *Questionário de frequência alimentar para adultos com base em estudo populacional*. Rev Saude Publica, 2008. **42**(3): p. 550-4.
114. Cintra, I.P., et al., *Métodos de inquéritos dietéticos*. Cad Saúde Pública., 1997. **13**: p. 11-23.
115. Thompson, F.E. and T. Byers, *Dietary assessment resource manual*. J Nutr, 1994. **124**(11 Suppl): p. 2245S-2317S.
116. Freudenheim, J.L., *A review of study designs and methods of dietary assessment in nutritional epidemiology of chronic disease*. J Nutr, 1993. **123**(2 Suppl): p. 401-5.
117. Willet, W.C. and I.M. Buzzard, *Foods and nutrients*. In: Willet WC. *Nutritional epidemiology*. New York:Oxford University Press, 1998.
118. Subar, A.F., et al., *The food propensity questionnaire: concept, development, and validation for use as a covariate in a model to estimate usual food intake*. J Am Diet Assoc, 2006. **106**(10): p. 1556-63.
119. Schaefer, E.J., et al., *Lack of efficacy of a food-frequency questionnaire in assessing dietary macronutrient intakes in subjects consuming diets of known composition*. Am J Clin Nutr, 2000. **71**(3): p. 746-51.
120. Kristal, A.R., et al., *Associations of race/ethnicity, education, and dietary intervention with the validity and reliability of a food frequency questionnaire: the Women's Health Trial Feasibility Study in Minority Populations*. Am J Epidemiol, 1997. **146**(10): p. 856-69.
121. Hu, F.B., et al., *Reproducibility and validity of dietary patterns assessed with a food-frequency questionnaire*. Am J Clin Nutr, 1999. **69**(2): p. 243-9.

122. Kroke, A., et al., *Validation of a self-administered food-frequency questionnaire administered in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC) Study: comparison of energy, protein, and macronutrient intakes estimated with the doubly labeled water, urinary nitrogen, and repeated 24-h dietary recall methods.* Am J Clin Nutr, 1999. **70**(4): p. 439-47.
123. Slater, B., et al., *Validação de questionários de frequência alimentar - QFA: considerações metodológicas.* Rev Bras Epidemiol, 2003. **6**(3): p. 200-8.
124. Fayet, F., et al., *Relative and biomarker-based validity of a food frequency questionnaire that measures the intakes of vitamin B(12), folate, iron, and zinc in young women.* Nutr Res, 2011. **31**(1): p. 14-20.
125. Serra-Majem, L., et al., *Dietary assessment methods for intakes of iron, calcium, selenium, zinc and iodine.* Br J Nutr, 2009. **102 Suppl 1**: p. S38-55.
126. Freitas, W.M., et al., *Association of systemic inflammatory activity with coronary and carotid atherosclerosis in the very elderly.* Atherosclerosis, 2011. **216**(1): p. 212-6.
127. WHO, *Obesity: preventing and managing the global epidemic. Report of a WHO consultation., in WHO Technical Report Series 894.* 2000: Geneva, Switzerland. p. i-xii, 1-253.
128. Lipschitz, D.A., *Screening for nutritional status in the elderly.* Prim Care, 1994. **21**(1): p. 55-67.
129. Durnin, J.V. and J. Womersley, *Body fat assessed from total body density and its estimation from skinfold thickness: measurements on 481 men and women aged from 16 to 72 years.* Br J Nutr, 1974. **32**(1): p. 77-97.
130. Siri, W.E., *Body composition from fluid spaces and density: analysis of methods.* 1961. Nutrition, 1993. **9**(5): p. 480-91; discussion 480, 492.
131. Lohman, T.G., A.F. Roche, and R. Martorell, *Anthropometric standardization reference manual. Abridged edition. 90.* 1991.
132. Ribeiro, A.S., KEO; Rodrigues,MLCF; Costa, THM; Schmitz, BAS, *Validação de um questionário de frequência de consumo alimentar para população adulta.* Rev. Nutr., 2006. **19**(5): p. 553-562.
133. Benzecry, E., et al., *Tabela para Avaliação de consumo Alimentar em Medidas Caseiras.* 4ª ed. 1998, 4ª ed. Rio de Janeiro.
134. Zaboto, C., R. Viana, and M. Gil, *Registro Fotográfico para Inquéritos Dietéticos - Utensílios e Porções.* 1996, Goiânia: UNICAMP/UFG/MS.
135. NEPA/UNICAMP, *Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (TACO) - versão 2.* 2ª ed. ed. 2006, 2ª ed. Campinas- SP.
136. Franco, G., *Tabela de Composição Química dos Alimentos.* 9 ed. 1999, 9ª ed. São Paulo: Atheneu.
137. Philippi, S., *Tabela de composição de alimentos: suporte para decisão nutricional.* 2001, Brasília: ANVISA/FINATEC-UnB.
138. Costa, A.P., et al., *High sodium intake adversely affects oxidative-inflammatory response, cardiac remodelling and mortality after myocardial infarction.* Atherosclerosis, 2012. **222**(1): p. 284-91.
139. Gottdiener, J.S., et al., *American Society of Echocardiography recommendations for use of echocardiography in clinical trials.* J Am Soc Echocardiogr, 2004. **17**(10): p. 1086-119.
140. Motoyama, S., et al., *Computed tomographic angiography characteristics of atherosclerotic plaques subsequently resulting in acute coronary syndrome.* J Am Coll Cardiol, 2009. **54**(1): p. 49-57.

141. Sposito, A.C., et al., [IV Brazilian Guideline for Dyslipidemia and Atherosclerosis prevention: Department of Atherosclerosis of Brazilian Society of Cardiology]. *Arq Bras Cardiol*, 2007. **88 Suppl 1**: p. 2-19.
142. Lohman, T.G., *Advances in body composition assessment*. Champaign: Human Kinetics Books;(Current Issues in Exercise Science Series). 1992.
143. Hotz, C., J.M. Peerson, and K.H. Brown, *Suggested lower cutoffs of serum zinc concentrations for assessing zinc status: reanalysis of the second National Health and Nutrition Examination Survey data (1976-1980)*. *Am J Clin Nutr*, 2003. **78**(4): p. 756-64.
144. WHO, *World Health Organization. Ageing:Exploding the Myths. Report*. 1999: Geneva.
145. Taddei CFG, et al., *Estudo multicêntrico de idosos atendidos em ambulatórios de cardiologia e geriatria de instituições brasileiras*. *Arq Bras Cardiol*, 1997. **69**: p. 327-33.
146. Inelmen, E., et al., *Can obesity be a risk factor in elderly people?* *Obes Rev*, 2003. **4**(3): p. 147-155.
147. Callen, B.L. and T.J. Wells, *Screening for nutritional risk in community-dwelling old-old*. *Public Health Nurs*, 2005. **22**(2): p. 138-46.
148. Marucci MFN and B. AR, *Estado nutricional e capacidade física. In: Lebrão ML, Duarte YAO. O Projeto SABE no Município de São Paulo: uma abordagem inicial.*, OPAS/MS, Editor. 2003: Brasília. p. 95-117.
149. Cesari, M., et al., *Frailty syndrome and skeletal muscle: results from the Invecchiare in Chianti study*. *Am J Clin Nutr*, 2006. **83**(5): p. 1142-8.
150. Hsiao, P.Y., et al., *Dietary patterns and diet quality among diverse older adults: the University of Alabama at Birmingham Study of Aging*. *J Nutr Health Aging*, 2013. **17**(1): p. 19-25.
151. Lerner, D.J. and W.B. Kannel, *Patterns of coronary heart disease morbidity and mortality in the sexes: a 26-year follow-up of the Framingham population*. *Am Heart J*, 1986. **111**(2): p. 383-90.
152. Lloyd-Jones, D.M., et al., *Prediction of lifetime risk for cardiovascular disease by risk factor burden at 50 years of age*. *Circulation*, 2006. **113**(6): p. 791-8.
153. Janssen, I. and A.E. Mark, *Elevated body mass index and mortality risk in the elderly*. *Obes Rev*, 2007. **8**(1): p. 41-59.
154. Heiat, A., V. Vaccarino, and H.M. Krumholz, *An evidence-based assessment of federal guidelines for overweight and obesity as they apply to elderly persons*. *Arch Intern Med*, 2001. **161**(9): p. 1194-203.
155. Silveira, E.A., G. Kac, and L.S. Barbosa, *Prevalência e fatores associados à obesidade em idosos residentes em Pelotas, Rio Grande do Sul, Brasil: classificação da obesidade segundo dois pontos de corte do índice de massa corporal*. *Cad. Saúde Pública*, 2009. **25**(7): p. 1569-1577.
156. Kuk, J.L., et al., *Age-related changes in total and regional fat distribution*. *Ageing Res Rev*, 2009. **8**(4): p. 339-48.
157. Gómez-Cabello A, et al., *Envejecimiento y composición corporal: la obesidad sarcopénica en España*. *Nutr Hosp.*, 2012. **27**(1).
158. Lebrão, M.L. and R. Laurenti, *Saúde, bem-estar e envelhecimento: o estudo SABE no Município de São Paulo*. *Rev Bras Epidemiol*, 2005. **8**(2): p. 127-41.
159. Nascimento CM, et al., *Estado nutricional e fatores associados em idosos do Município de Viçosa, Minas Gerais, Brasil*. *Cad Saúde Pública.*, 2011. **27**(12): p. 2409-18.
160. SBC/SBH/SBN, *VI Diretrizes Brasileiras de Hipertensão*. *Arq Bras Cardiol*, 2010. **95**(1 supl.1): p. 1-51.

161. MS-BRASIL, VIGITEL BRASIL - 2011 - Vigilância de Fatores de Risco e Proteção para Doenças Crônicas por Inquérito Telefônico. MINISTÉRIO DA SAÚDE - Secretaria de Vigilância em Saúde - Secretaria de Gestão Estratégica e Participativa
2012: Brasília- DF.
162. McDonald, M., et al., *Prevalence, awareness, and management of hypertension, dyslipidemia, and diabetes among United States adults aged 65 and older*. J Gerontol A Biol Sci Med Sci, 2009. **64**(2): p. 256-63.
163. Fuchs, F.D., et al., *Blood pressure effects of antihypertensive drugs and changes in lifestyle in a Brazilian hypertensive cohort*. J Hypertens, 1997. **15**(7): p. 783-92.
164. Barcelo, A., et al., *The prevalence of diagnosed diabetes among the elderly of seven cities in Latin America and the Caribbean: The Health Wellbeing and Aging (SABE) Project*. J Aging Health, 2006. **18**(2): p. 224-39.
165. Rigo, J.C., et al., *Prevalence of metabolic syndrome in an elderly community: comparison between three diagnostic methods*. Arq Bras Cardiol, 2009. **93**(2): p. 85-91.
166. Guize, L., et al., *[Metabolic syndrome: prevalence, risk factors and mortality in a French population of 62 000 subjects]*. Bull Acad Natl Med, 2006. **190**(3): p. 685-97; discussion 697-700.
167. Athyros, V.G., et al., *The prevalence of the metabolic syndrome using the National Cholesterol Educational Program and International Diabetes Federation definitions*. Curr Med Res Opin, 2005. **21**(8): p. 1157-9.
168. Ravaglia, G., et al., *Metabolic Syndrome: prevalence and prediction of mortality in elderly individuals*. Diabetes Care, 2006. **29**(11): p. 2471-6.
169. IBGE, *Pesquisa Nacional por Amostra de Domicílios 2008. Um panorama da Saúde no Brasil. Acesso e Utilização de Serviços, ondições de Saúde e Fatores de Risco e proteção à Saúde 2008. Ministério do Planejamento, Orçamento e Gestão*
2010: Rio de Janeiro.
170. Lowe, N.M., K. Fekete, and T. Decsi, *Methods of assessment of zinc status in humans: a systematic review*. Am J Clin Nutr, 2009. **89**(6): p. 2040S-2051S.
171. Lowe, N.M., et al., *The relationship between zinc intake and serum/plasma zinc concentration in adults: a systematic review and dose-response meta-analysis by the EURRECA Network*. Br J Nutr, 2012. **108**(11): p. 1962-71.
172. McClain, C.J., et al., *Trace metals and the elderly*. Clin Geriatr Med, 2002. **18**(4): p. 801-18, vii-viii.
173. del Pozo, S., C. Cuadrado, and O. Moreiras, *[Age-related changes in the dietary intake of elderly individuals. The Euronut-SENECA study]*. Nutr Hosp, 2003. **18**(6): p. 348-52.
174. Mocchegiani, E., et al., *Zinc: dietary intake and impact of supplementation on immune function in elderly*. Age (Dordr), 2013. **35**(3): p. 839-60.
175. Chasapis, C.T., et al., *Zinc and human health: an update*. Arch Toxicol, 2012. **86**(4): p. 521-34.
176. Briefel, R.R. and C.L. Johnson, *Secular trends in dietary intake in the United States*. Annu Rev Nutr, 2004. **24**: p. 401-31.
177. Martinez Tome, M.J., et al., *Food habits and nutritional status of elderly people living in a Spanish Mediterranean city*. Nutr Hosp, 2011. **26**(5): p. 1175-82.
178. Garcia, R., *Reflexos da globalização na cultura alimentar: considerações sobre as mudanças na alimentação urbana*. Rev. Nutr. Campinas, 2003. **16**(4): p. 483-492.

179. Prasad, A.S., *Zinc: role in immunity, oxidative stress and chronic inflammation*. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*, 2009. **12**(6): p. 646-52.
180. Foster, M., P. Petocz, and S. Samman, *Inflammation markers predict zinc transporter gene expression in women with type 2 diabetes mellitus*. *J Nutr Biochem*, 2013. **24**(9): p. 1655-61.
181. Noh, H., et al., *The alteration of zinc transporter gene expression is associated with inflammatory markers in obese women*. *Biol Trace Elem Res*, 2014. **158**(1): p. 1-8.
182. Wong, C.P., K.R. Magnusson, and E. Ho, *Increased inflammatory response in aged mice is associated with age-related zinc deficiency and zinc transporter dysregulation*. *J Nutr Biochem*, 2013. **24**(1): p. 353-9.
183. Pilz, S., et al., *Low serum zinc concentrations predict mortality in patients referred to coronary angiography*. *Br J Nutr*, 2009. **101**(10): p. 1534-40.
184. Jacobs, D.R., Jr., M.D. Gross, and L.C. Tapsell, *Food synergy: an operational concept for understanding nutrition*. *Am J Clin Nutr*, 2009. **89**(5): p. 1543S-1548S.
185. Ma, J. and N.M. Betts, *Zinc and copper intakes and their major food sources for older adults in the 1994-96 continuing survey of food intakes by individuals (CSFII)*. *J Nutr*, 2000. **130**(11): p. 2838-43.
186. Sandstrom, B., *Bioavailability of zinc*. *Eur J Clin Nutr*, 1997. **51 Suppl 1**: p. S17-9.
187. CESAR, T.B., S.R. WADA, and R.G. BORGES, *Zinco plasmático e estado nutricional em idosos*. *Rev. Nutr., Campinas*, 2005. **18**(3): p. 357-365.
188. Wood, R.J., *Assessment of marginal zinc status in humans*. *J Nutr*, 2000. **130**(5S Suppl): p. 1350S-4S.
189. Feillet-Coudray, C., et al., *Long-term moderate zinc supplementation increases exchangeable zinc pool masses in late-middle-aged men: the Zenith Study*. *Am J Clin Nutr*, 2005. **82**(1): p. 103-10.
190. Vlachopoulos, C., et al., *Inflammation, metabolic syndrome, erectile dysfunction, and coronary artery disease: common links*. *Eur Urol*, 2007. **52**(6): p. 1590-600.
191. Kazemi-Bajestani, S.M., et al., *Serum copper and zinc concentrations are lower in Iranian patients with angiographically defined coronary artery disease than in subjects with a normal angiogram*. *J Trace Elem Med Biol*, 2007. **21**(1): p. 22-8.
192. Kazi, T.G., et al., *Distribution of zinc, copper and iron in biological samples of Pakistani myocardial infarction (1st, 2nd and 3rd heart attack) patients and controls*. *Clin Chim Acta*, 2008. **389**(1-2): p. 114-9.
193. Minqin, R., et al., *Correlation of iron and zinc levels with lesion depth in newly formed atherosclerotic lesions*. *Free Radic Biol Med*, 2003. **34**(6): p. 746-52.
194. Alissa, E.M., et al., *Trace element status in Saudi patients with established atherosclerosis*. *J Trace Elem Med Biol*, 2006. **20**(2): p. 105-14.
195. Sesso, H.D., et al., *Multivitamins in the prevention of cardiovascular disease in men: the Physicians' Health Study II randomized controlled trial*. *Jama*, 2012. **308**(17): p. 1751-60.
196. Sydow, K. and T. Munzel, *ADMA and oxidative stress*. *Atheroscler Suppl*, 2003. **4**(4): p. 41-51.

APÊNDICE

Paciente: _____ Data de nascimento: ___ / ___ / ___

Número do questionário: _____ Data: ___ / ___ / ___

ANTROPOMETRIA		
1	Peso : _____ Kg	2) Altura : _____ cm
		3) Circ. Abdominal : _____ cm
4	IMC : _____ Kg/m ²	Altura do joelho: _____ cm

PREGAS CUTÂNEAS					
	Prega	1 ^a Medida	2 ^a Medida	3 ^a Medida	Média
5)	Bicipital				
6)	Tricipital				
7)	Subescapular				
8)	Suprailíaca				
9)	Somatório				
10)	% Gordura Corporal				

FREQUÊNCIA ALIMENTAR SEMI-QUANTITATIVO (QFCA)										
	Produtos	Porção Consumida	Frequência						R / N	Qtd gl/ml
			1 vez dia	2 / mais vezes dia	1 vez semana	2 a 4 vezes semana	5 a 6 vezes semana	1 a 3 vezes mês		
LEITE E DERIVADOS										
11)	Leite desnatado ou semidesnatado									
12)	Leite Integral									
13)	logurte									
14)	Queijo Branco (minas / frescal)									

FREQÜÊNCIA ALIMENTAR SEMI-QUANTITATIVO (QFCA)									
Produtos	Porção Consumida	Frequência							Qtd gl/ml
		1 vez dia	2 / mais vezes dia	1 vez semana	2 a 4 vezes semana	5 a 6 vezes semana	1 a 3 vezes mês	R / N	
15)	Queijo Amarelo (prato / Mussarela)								
16)	Requeijão								

FREQÜÊNCIA ALIMENTAR SEMI-QUANTITATIVO (QFCA)									
Produtos	Porção Consumida	Frequência							Qtd gl/ml
		1 vez dia	2 / mais vezes dia	1 vez semana	2 a 4 vezes semana	5 a 6 vezes semana	1 a 3 vezes mês	R / N	
OVOS E CARNES									
17)	Ovo Frito								
18)	Ovo Cozido								
19)	Carne Boi								
20)	Carne Porco								
21)	Frango								
22)	Peixe Fresco								
23)	Peixe Enlatado (sardinha/atum)								
24)	Carne conservada sal (bacalhau, carne seca/sol, pertences feijoada)								
25)	Vísceras (fígado, rim, coração)								
26)	Embutidos (salsicha, presunto, mortadela, salame)								

ÓLEOS										
27)	Azeite									
28)	Molho Salada									
29)	Bacon Toucinho									
30)	Manteiga									
31)	Margarina									
32)	Maionese									

PETISCOS E ENLATADOS										
33)	Snacks (Batata-frita, sanduíche.,pizza,esfiha, salgado,cheetos,amendoim)									
34)	Enlatados (milho, ervilha, palmito, azeitona)									

FREQÜÊNCIA ALIMENTAR SEMI-QUANTITATIVO (QFCA)

Produtos	Porção Consumida	Frequência							Qtd g/ml
		1 vez dia	2 / mais vezes dia	1 vez semana	2 a 4 vezes semana	5 a 6 vezes semana	1 a 3 vezes mês	R / N	

CEREAIS E LEGUMINOSAS

35)	Arroz Integral								
36)	Arroz Polido								
37)	Pão Integral								
38)	Pão Francês Forma								
39)	Biscoito Salgado								
40)	Biscoito Doce								
41)	Beiju / Cuscuz								
42)	Bolos								
43)	Macarrão								
44)	Feijão								
45)	Sopa								

HORTALIÇAS E FRUTAS

46)	Folha Crua								
	-								
	-								
47)	Folha Refogada / Cozida								
	-								
	-								

48)	Hortaliça Crua									
	-									
	-									
	-									
49)	Hortaliça Cozida									
	-									
	-									
	-									
50)	Tubérculos (cará, mandioca, batata, inhame)									
51)	Frutas									
	-									
	-									
	-									

FREQÜÊNCIA ALIMENTAR SEMI-QUANTITATIVO (QFCA)

Produtos	Porção Consumida	Frequência							Qtd g/ml
		1 vez dia	2 / mais vezes dia	1 vez semana	2 a 4 vezes semana	5 a 6 vezes semana	1 a 3 vezes mês	R / N	

SOBREMESAS E DOCES

52)	Sorvete									
53)	Tortas									
54)	Geléia									
55)	Doces e Balas									
56)	Chocolate, Achoc. e Bombom									

BEBIDAS										
57)	Café com Açúcar									
58)	Café sem Açúcar									
59)	Suco Natural com Açúcar									
60)	Suco Natural sem Açúcar									
61)	Suco Artificial com Açúcar									
62)	Suco Artificial sem Açúcar									
63)	Refrigerante Normal									
64)	Bebida alcoólica fermentada (cerveja, vinho)									
65)	Bebida alcoólica destilada (pinga, vodka, uísque)									
66)	Chá									

PRODUTOS DIET E LIGHT										
67)	Adoçante									
68)	Margarina									
69)	Requeijão – logurte									
70)	Refrigerante									

TEMPEROS / PREPARO DAS REFEIÇÕES		
71)	Óleo	_____ latas / mês / _____ pessoas (Tipo: _____)
72)	Sal	_____ g / mês / _____ pessoas

Anexo A- Parecer de Aprovação no Comitê de Ética e Pesquisa da Secretaria de Saúde do Distrito Federal



GOVERNO DO DISTRITO FEDERAL
SECRETARIA DE ESTADO DE SAÚDE
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA



PARECER Nº 221/2008

PROTOCOLO Nº DO PROJETO: 213/08 – Associação entre atividade inflamatória e doença aterosclerótica coronariana e carotídea no muito idoso.

Área Temática Especial: Grupo III (não pertencente à área temática especial), Ciências da Saúde;

Validade do Parecer: 09/09/2010

Tendo como base a Resolução 196/96 CNS/MS, que dispõe sobre as diretrizes e normas regulamentadoras em pesquisa envolvendo seres humanos, assim como as suas resoluções complementares, o Comitê de Ética em Pesquisa da Secretaria de Estado de Saúde do Distrito Federal, após apreciação ética, manifesta-se pela **APROVAÇÃO DO PROJETO**.

Esclarecemos que o pesquisador deverá observar as responsabilidades que lhe são atribuídas na Resolução 196/96 CNS/MS, inciso IX.1 e IX.2, em relação ao desenvolvimento do projeto. **Ressaltamos a necessidade de encaminhar o relatório parcial e final, além de notificações de eventos adversos quando pertinentes.**

Brasília, 09 de setembro de 2008.

Atenciosamente.

Maria Rita Carvalho Garbi Novaes
Comitê de Ética em Pesquisa/SES-DF
Coordenadora

AMS/CEP/SES-DF

Fundação de Ensino e Pesquisa em Ciências da Saúde - SES
Comitê de Ética em Pesquisa
Fone: 325-4955 - Fone/Fax: 326-0119 - e-mail: cepesedf@saude.df.gov.br
SMHN - Q. 501 - Bloco "A" - Brasília - DF - CEP.: 70.710-904

BRÁSILIA - PATRIMÔNIO CULTURAL DA HUMANIDADE

Anexo B- Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO - TCLE

O (a) Sr (a) está sendo convidado para participar do projeto de estudo – BIOCÁRDIOS, que especificamente tem como título:

Associação entre atividade inflamatória e doença aterosclerótica e carotídea no muito idoso.
O nosso objetivo é: **Verificar se algumas substâncias no sangue poderão nos ajudar a descobrir doenças no coração e nas artérias que levam sangue para o cérebro.**

O (a) senhor (a) receberá todos os esclarecimentos necessários antes e no decorrer do estudo e lhe asseguramos que o seu nome não aparecerá em nenhuma hipótese e que todas as informações que possam identificá-lo serão omitidas nas publicações científicas que porventura ocorra.

A sua participação no estudo será através de respostas a questionários, exames de sangue e exames cardiológicos usuais todos NÃO INVASIVOS.

NÃO SERÁ USADA NENHUMA MEDICAÇÃO ALÉM DAS USADAS PELO SENHOR (A) ATUALMENTE.

O presente estudo visa tentar descobrir substâncias no seu sangue que possam estar relacionadas com o derrame e o infarto em pessoas com mais de 80 anos.

A sua participação será **TOTALMENTE VOLUNTÁRIA E TEM COMO O ÚNICO OBJETIVO COLABORAR COM O DESENVOLVIMENTO DA CIÊNCIA.**

PODENDO SE RETIRAR DO ESTUDO A QUALQUER MOMENTO SE ASSIM DESEJAR.

Informamos também que poderá se recusar a responder qualquer questão se lhe causar algum tipo de constrangimento.

Todos os dados inclusive seu sangue ficará sob a guarda da BIOCÁRDIOS.

O presente estudo foi aprovado pelo comitê de ética SES/DF e para qualquer dúvida sobre os direitos dos participantes favor entrar em contato com o telefone 61- 3325-4955

E o presente estudo está em conformidade com os critérios internacionais de pesquisa clínica.

A pesquisa esta sob responsabilidade do Dr. WLADIMIR MAGALHAES DE FREITAS tel: 61- 99893317/ 3242-4080 – wladimir.magalhaes@terra.com.br que terá toda a boa vontade de tirar suas dúvidas em data e horário marcado previamente.

Este documento foi elaborado em duas vias uma ficará com o pesquisador e outra com o sujeito da pesquisa.

NOME E ASSINATURA-----

NOME E ASSINATURA -----
DO PESQUISADOR BRASÍLIA-----/-----/-----