

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

Escola de Enfermagem

Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Saúde

Karine Aglio Vasconcelos

**Estado nutricional de cobre e zinco, razão cobre/zinco e relação com indicadores de  
qualidade muscular e composição corporal em idosos longevos  
saudáveis**

Belo Horizonte

2023

**Karine Aglio Vasconcelos**

**Estado nutricional de cobre e zinco, razão cobre/zinco e relação com indicadores de  
qualidade muscular e composição corporal em idosos longevos  
saudáveis**

**Versão Final**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós Graduação em Nutrição e Saúde pela Escola de Enfermagem da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Nutrição e Saúde.

Área de concentração: Nutrição e Saúde  
Linha de pesquisa: Nutrição Clínica e Experimental  
Orientador: Gilberto Simeone Henriques  
Coorientadora: Ann Kristine Jansen

Belo Horizonte

2023

V331e Vasconcelos, Karine Aglio.  
Estado nutricional de cobre e zinco, razão cobre/zinco e relação com indicadores de qualidade muscular e composição corporal em idosos longevos saudáveis [recursos eletrônicos]. / Karine Aglio Vasconcelos. - - Belo Horizonte: 2023.  
180f.: il.  
Formato: PDF.  
Requisitos do Sistema: Adobe Digital Editions.

Orientador (a): Gilberto Simeone Henriques.  
Coorientador (a): Ann Kristine Jansen.  
Área de concentração: Nutrição e Saúde.  
Dissertação (mestrado): Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Enfermagem.

1. Idoso de 80 Anos ou mais. 2. Envelhecimento Saudável. 3. Zinco. 4. Cobre. 5. Impedância Elétrica. 6. Estado Nutricional. 7. Dissertação Acadêmica. I. Henriques, Gilberto Simeone. II. Jansen, Ann Kristine. III. Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Enfermagem. IV. Título.

NLM: QU 145

Bibliotecário responsável: Fabian Rodrigo dos Santos CRB-6/2697



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

ESCOLA DE ENFERMAGEM  
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NUTRIÇÃO E SAÚDE

**ATA DE NÚMERO 102 (CENTO E DOIS) DA SESSÃO DE ARGUIÇÃO E DEFESA DA DISSERTAÇÃO APRESENTADA PELA CANDIDATA KARINE AGLIO VASCONCELOS PARA OBTENÇÃO DO TÍTULO DE MESTRE EM NUTRIÇÃO E SAÚDE.**

Aos 13 (treze) dias do mês de dezembro de dois mil e vinte e três, às 09:00 horas, realizou-se no Anfiteatro Laís Netto da Escola de Enfermagem da Universidade Federal de Minas Gerais, a sessão pública para apresentação e defesa da dissertação "**ESTADO NUTRICIONAL DE COBRE E ZINCO, RAZÃO COBRE/ZINCO E RELAÇÃO COM INDICADORES DE QUALIDADE MUSCULAR E COMPOSIÇÃO CORPORAL EM IDOSOS LONGEVOS SAUDÁVEIS**", da aluna **Karine Aglio Vasconcelos**, candidata ao título de "Mestre em Nutrição e Saúde", linha de pesquisa "Nutrição Clínica e Experimental". A Comissão Examinadora foi constituída pelos professores doutores Gilberto Simeone Henriques, Ann Kristine Jansen, Marco Túlio Gualberto Cintra e Carla Soraya da Costa Maia, sob a presidência do primeiro. Abrindo a sessão, o Senhor Presidente da Comissão, após dar conhecimento aos presentes do teor das Normas Regulamentares do Trabalho Final, passou a palavra à candidata para apresentação de seu trabalho. Seguiu-se a arguição pelos examinadores com a respectiva defesa da candidata. Logo após, a Comissão se reuniu sem a presença da candidata, para julgamento e expedição do seguinte resultado final:

APROVADO;

APROVADO COM AS MODIFICAÇÕES CONTIDAS NA FOLHA EM ANEXO;

REPROVADO.

O resultado final foi comunicado publicamente à candidata pelo Senhor Presidente da Comissão. Nada mais havendo a tratar, eu, Gilberto Simeone Henriques, Presidente da Comissão Examinadora, lavrei a presente Ata, que depois de lida e aprovada será assinada por mim e pelos demais membros da Comissão Examinadora.

**Belo Horizonte, 13 de dezembro de 2023.**

Prof. Dr. Gilberto Simeone Henriques

Orientador (UFMG)

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup> Ann Kristine Jansen

Coorientadora (UFMG)

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Carla Soraya da Costa Maia

Membro Titular (UECE)

Prof. Dr. Marco Túlio Gualberto Cintra

Membro Titular (UFMG)



Documento assinado eletronicamente por **Gilberto Simeone Henriques, Chefe de departamento**, em 15/12/2023, às 09:50, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Ann Kristine Jansen, Professora do Magistério Superior**, em 19/12/2023, às 10:00, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Marco Tulio Gualberto Cintra, Professor do Magistério Superior**, em 19/12/2023, às 13:12, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Carla Soraya Costa Maia, Usuário Externo**, em 25/03/2024, às 12:06, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site [https://sei.ufmg.br/sei/controlador\\_externo.php?acao=documento\\_conferir&id\\_orgao\\_acesso\\_externo=0](https://sei.ufmg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0), informando o código verificador **2904958** e o código CRC **DE380BE5**.

## RESUMO

**Introdução:** Em 30 anos, o percentual de idosos longevos irá triplicar, entretanto, os idosos têm vivências particulares em cada fase do envelhecimento. A nutrição adequada é um pilar fundamental no envelhecimento saudável. Cobre e zinco são associados à indicadores de qualidade muscular e composição corporal. Contudo, essas associações carecem de maior elucidação no contexto de pessoas idosas longevas saudáveis. Ademais, a razão Cobre/Zinco (RCZ) tem sido apontada como um preditor de declínio funcional e mortalidade. **Objetivo:** Estudar a relação de biomarcadores de zinco e cobre e a RCZ com indicadores de qualidade muscular e parâmetros de composição corporal em pessoas idosas longevas saudáveis. **Métodos:** Estudo transversal com idosos de 80 anos ou mais não frágeis. A composição corporal foi avaliada por antropometria e bioimpedância e o consumo alimentar por três registros alimentares de dias não consecutivos. Os indicadores de qualidade muscular foram os testes de força de preensão palmar e o Short Physical Performance Battery (SPPB). O ângulo de fase (AF) foi avaliado como marcador da integridade muscular. Os biomarcadores plasmáticos, eritrocitários e urinários foram avaliados a partir de amostras de sangue e de urina de 24 horas. A RCZ foi calculada e os participantes foram divididos em quartis de acordo com o valor desta relação e dicotomizados em dois grupos, sendo o primeiro composto pelos três quartis iniciais da distribuição e o segundo pelo quarto quartil. Análises multivariadas e de regressão de Poisson foram realizadas. **Resultados:** Foram incluídos 71 idosos saudáveis, com mediana de idade de 84 (82-87) anos, sendo 55% do sexo feminino. A inadequação para ingestão de Zn e Cu foi observada em 53,4% e 42,3% da amostra, respectivamente. Em relação ao Zn, 43,7%, 7% e 57,1%, dos idosos apresentaram adequação para os biomarcadores plasmáticos, eritrocitários e urinários, respectivamente. Quanto ao Cu, a adequação foi encontrada em 100%, 100% e 3,17% da amostra para os respectivos compartimentos. 76% dos idosos apresentaram bom desempenho no SPPB e 82,1% apresentaram força de preensão palmar adequada. Entretanto, nenhum destes indicadores de qualidade muscular e de consumo alimentar, bem como as variáveis antropométricas, esteve significativamente associado aos biomarcadores de Cu e de Zn. Encontramos uma RCZ média de 1,51 ( $\pm$  0,16), sem diferença entre os sexos. Associação inversa significativa foi encontrada entre a RCZ e o AF ( $p = 0,026$ ; razão de prevalência: 0,62 (IC 95% 0,47 - 0,81;  $p = 0,001$ ) com ajuste para idade). **Conclusão:** Mesmo no contexto

do envelhecimento saudável, observamos alta incidência de inadequação dos biomarcadores de Zn, o que não foi encontrado para o estado nutricional do Cu, com exceção apenas do biomarcador urinário. Em idosos longevos e saudáveis os biomarcadores estudados não foram associados com os indicadores de qualidade muscular e as variáveis antropométricas. A RCZ esteve inversamente associada ao AF, parâmetro que reflete a integridade celular e tem sido associado à sarcopenia, fragilidade e mortalidade em diferentes populações geriátricas.

**Palavras-chave:** idoso de 80 anos ou mais; envelhecimento saudável; zinco; cobre; impedância elétrica.

## ABSTRACT

**Introduction:** In 30 years, the percentage of longevous elderly people will triple, however, they have particular experiences at each stage of aging. Adequate nutrition is a fundamental pillar in healthy aging. Copper and zinc are associated with indicators of muscle quality and body composition. However, these associations require further elucidation in the context of healthy, long-lived elderly people. Furthermore, the Copper/Zinc ratio (CZR) has been identified as a predictor of functional decline and mortality. **Objective:** To study the relationship between zinc and copper biomarkers and CZR with muscle quality indicators and body composition parameters in healthy longevous elderly people. **Methods:** Cross-sectional study with non-frail elderly people aged 80 or over. Body composition was assessed by anthropometry and bioimpedance and food consumption by three food records on non-consecutive days. Muscle quality indicators were handgrip strength tests and the Short Physical Performance Battery (SPPB). Phase angle (FA) was evaluated as a marker of muscle integrity. Plasma, erythrocyte and urinary biomarkers were assessed from 24-hour blood and urine samples. The RCZ was calculated and participants were divided into quartiles according to the value of this relationship and dichotomized into two groups, the first being composed of the three initial quartiles of the distribution and the second comprising the fourth quartile. Bivariate and Poisson regression analyzes were performed. **Results:** 71 healthy elderly people were included, with a median age of 84 (82-87) years, 55% of whom were female. Inadequate intake of Zn and Cu was observed in 53.4% and 42.3% of the sample, respectively. Regarding Zn, 43.7%, 7% and 57.1% of the elderly had adequate plasma, erythrocyte and urinary biomarkers, respectively. As for Cu, adequacy was found in 100%, 100% and 3.17% of the sample for the respective compartments. 76% of the elderly presented good performance in the SPPB and 82.1% had adequate handgrip strength. However, none of these indicators of muscle quality and food consumption, as well as anthropometric variables, were significantly associated with Cu and Zn biomarkers. We found an average CZR of 1.51 ( $\pm 0.16$ ), with no difference between sex. A significant inverse association was found between CZR and PA ( $p = 0.026$ ; prevalence ratio: 0.62 (95% CI 0.47 - 0.81;  $p = 0.001$ ) with adjustment for age). **Conclusion:** Even in the context of healthy aging, we observed a high incidence of inadequacy of Zn

biomarkers which was not the case with the nutritional status of Cu, where only the urinary biomarker was altered. In healthy longevous elderly people, the studied biomarkers were not associated with muscle quality indicators and anthropometric variables. RCZ was inversely associated with PA, a parameter that reflects cellular integrity and has been associated with sarcopenia, frailty and mortality in different geriatric populations.

**Keywords:** aged 80 or over; healthy aging; zinc; copper; electric impedance.

## **LISTA DE FIGURAS**

|  |    |
|--|----|
| Figura 1 - Classificação Clínico-Funcional dos Idosos (Escala Visioanalógica de Fragilidade Clínico-funcional) | 38 |
| Figura 2 - Pontos anatômicos de colocação dos eletrodos para realização de bioimpedância                       | 46 |
| Figura 3 - Aferição da máxima força de preensão palmar   | 47 |
| Figura 4 - Pontuação nos testes do SPPB  | 49 |

## LISTA DE QUADROS

|   |    |
|---|----|
| Quadro 1 - Nomenclatura, localização em compartimentos do organismo e funções das cuproenzimas de proteínas cobre dependentes | 27 |
| Quadro 2 - Estratos funcionais de acordo com a Classificação Clínico-Funcional dos idosos <sup>163</sup> .                    | 39 |
| Quadro 3 - Fluxograma do recrutamento e coleta de dados dos idosos longevos   | 42 |
| Quadro 4 – Fórmulas propostas para estimativa de estatura e peso para idosos de 60 a 80 anos                                  | 44 |
| Quadro 5 - Classificação de idosos de acordo com o IMC.   | 45 |
| Quadro 6 - Descrição da pontuação nos 3 testes do SPPB.   | 48 |
| Quadro 7 - Valores de referência dos biomarcadores de Zn e Cu   | 53 |

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

|           |   |
|-----------|---|
| AJ        | Altura do joelho                                |
| ALB       | Albumina  |
| ATOX1     | Proteína transportadora de Cu                   |
| ATP       | Adenosina trifosfato                            |
| ATP7A     | Adenosina trifosfatase alpha                    |
| ATP7B     | Adenosina trifosfatase beta                     |
| AVD       | Atividades de vida diária                       |
| BH        | Belo Horizonte                                  |
| CAAE      | Certificado de Apresentação e Apreciação Ética  |
| CCS       | Chaperona de Cu para a superóxido dismutase     |
| COX17     | Chaperona de Cobre do Citocromo C Oxidase       |
| CP        | Ceruloplasmina                                  |
| CTR1      | Transportador de cobre 1                        |
| Cu        | Cobre   |
| Cu I      | Íon cúprico                                     |
| Cu II     | Íon cuproso                                     |
| Cu/Zn SOD | Cobre-zinco superóxido dismutase                |
| DEXA      | Absorciometria de raios-X de dupla energia      |
| DM        | Diabetes mellitus                               |
| DMO       | Densidade mineral óssea                         |
| EROS      | Espécies reativas de oxigênio                   |
| EUA       | Estados Unidos da América                       |
| Fmax      | Força máxima de preensão palmar                 |
| HAS       | Hipertensão arterial sistêmica                  |
| HC        | Hospital das Clínicas                           |
| IBGE      | Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística |
| IL-6      | Interleucina-6                                  |
| IMC       | Índice de massa corporal                        |
| IOM       | Institute of Medicine (EUA)                     |
| MEEM      | Mini Exame do Estado Mental                     |
| MMA       | Massa magra apendicular                         |

|               |   |
|---------------|---|
| MMII          | Membros inferiores                                      |
| MT            | Metalotioneína(s)                                       |
| NHANES        | <i>National Health and Nutrition Examination Survey</i> |
| OMS           | Organização Mundial de Saúde                            |
| PB            | Perímetro do braço                                      |
| PC            | Perímetro da cintura                                    |
| PCR           | Proteína C reativa                                      |
| POF           | Pesquisa de orçamentos familiares                       |
| PP            | Perímetro da panturrilha                                |
| QAF           | Questionário de Atividades Funcionais                   |
| RCZ           | Razão Cobre/Zinco                                       |
| SOD           | Superóxido dismutase                                    |
| SPPB          | Short Physical Performance Battery                      |
| SPSS          | Statistical Package for the Social Sciences             |
| TCLE          | Termo de consentimento livre e esclarecido              |
| TNF- $\alpha$ | Fator de necrose tumoral alfa                           |
| UFMG          | Universidade Federal de Minas Gerais                    |
| VHS           | Velocidade de hemossedimentação                         |
| VM            | Velocidade de marcha                                    |
| Zn            | Zinco   |

## SUMÁRIO

|       |   |    |
|-------|---|----|
| 1.    | APRESENTAÇÃO .....  | 16 |
| 2.    | INTRODUÇÃO .....  | 18 |
| 2.1   | O envelhecimento saudável e longevidade.....                  | 18 |
| 2.2   | Zinco e o envelhecimento saudável.....                        | 20 |
| 2.3   | Cobre e o envelhecimento saudável .....                       | 25 |
| 2.4   | Razão Cobre/Zinco e o envelhecimento .....                    | 32 |
| 3.    | OBJETIVOS .....   | 36 |
| 3.1   | Objetivos gerais .....  | 36 |
| 3.2   | Objetivos específicos .....                                   | 36 |
| 4.    | MATERIAIS E MÉTODOS .....                                     | 37 |
| 4.1   | Delineamento .....  | 37 |
| 4.2   | Local do estudo.....  | 37 |
| 4.3   | Aspectos éticos .....   | 37 |
| 4.4   | Financiamento.....  | 37 |
| 4.5   | Amostra.....  | 38 |
| 4.6   | Dados coletados .....   | 41 |
| 4.6.1 | Dados sociodemográficos .....                                 | 42 |
| 4.6.2 | Dados de Saúde.....   | 43 |
| 4.6.3 | Dados antropométricos .....                                   | 43 |
| 4.6.4 | Bioimpedância .....   | 45 |
| 4.6.6 | Dados de consumo alimentar.....                               | 49 |
| 4.6.7 | Coleta de sangue e separação dos componentes sanguíneos ..... | 50 |
| 4.6.8 | Coleta de urina de 24 horas .....                             | 51 |

|       |   |     |
|-------|---|-----|
| 4.7   | Controle de contaminação e preparo dos reagentes.....   | 52  |
| 4.8   | Análise dos Minerais .....  | 52  |
| 4.9   | Análise estatística .....   | 53  |
|       | REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....  | 56  |
| 5.    | RESULTADOS E DISCUSSÃO .....  | 73  |
| 5.1   | Artigos Originais .....   | 73  |
| 5.1.1 | Estado nutricional de cobre e zinco de acordo com o sexo em idosos longevos com envelhecimento saudável de Minas Gerais, Brasil ..... | 73  |
|       | RESUMO.....   | 73  |
|       | MATERIAIS E MÉTODOS.....  | 76  |
|       | RESULTADOS .....  | 81  |
|       | DISCUSSÃO.....  | 85  |
|       | CONCLUSÃO.....  | 91  |
|       | FINANCIAMENTO.....  | 91  |
|       | REFERÊNCIAS .....   | 91  |
| 5.1.2 | Razão cobre/zinco elevada e baixo ângulo de fase em idosos longevos com envelhecimento saudável .....                                 | 99  |
|       | RESUMO.....   | 99  |
|       | ABSTRACT .....  | 100 |
|       | INTRODUÇÃO.....   | 101 |
|       | MATERIAIS E MÉTODOS.....  | 102 |
|       | RESULTADOS .....  | 106 |
|       | DISCUSSÃO.....  | 110 |
|       | CONCLUSÃO.....  | 113 |
|       | FINANCIAMENTO.....  | 114 |
|       | REFERÊNCIAS .....   | 114 |

|    |  |     |
|----|--|-----|
| 6. | CONSIDERAÇÕES FINAIS .....   | 122 |
|    | APÊNDICES .....  | 124 |
|    | APÊNDICE A – Termo de consentimento livre e esclarecido .....  | 124 |
|    | APÊNDICE B – Ficha da coleta de dados.....   | 127 |
|    | APÊNDICE C – Ficha de registro alimentar .....   | 137 |
|    | APÊNDICE D – Orientações para a coleta de urina de 24h.....  | 144 |
|    | APÊNDICE E– Ficha de resultados de exames: biomarcadores séricos e urinários, DEXA, teste de marcha e força de preensão palmar .....                                       | 146 |
|    | APÊNDICE F – Fluxograma de dados perdidos ou não coletados.....  | 149 |
|    | ANEXOS.....  | 151 |
|    | ANEXO A – Parecer consubstanciado do Comitê de ética em pesquisa da UFMG .....   | 151 |
|    | ANEXO B - Parecer de aprovação do projeto de pesquisa "Perfil de minerais de idosos e relação com o envelhecimento saudável" pelo Comitê de ética em pesquisa da UFMG..... | 158 |
|    | ANEXO C – Tabela de valores Z do Instituto de Matemática, Estatística e Computação Científica da Universidade Estadual de Campinas .....                                   | 159 |
|    | ANEXO D – Instruções aos autores – Revista Biological Trace Element Research.....  | 160 |
|    | ANEXO E - Instruções aos autores – Revista Nutrition.....  | 172 |

## 1. APRESENTAÇÃO

O envelhecimento populacional é um processo global, entretanto, os países de baixa e média renda experienciam esta mudança com maior intensidade<sup>1</sup>. Os indivíduos idosos longevos, com idade superior a 80 anos, correspondem a 2,3% da população brasileira em 2023, e espera-se que este percentual triplique em até 30 anos<sup>2</sup>. Este aumento da expectativa de vida deve ser acompanhado da manutenção da qualidade de vida, sem grandes implicações na capacidade funcional, pelo maior período possível<sup>1</sup>.

A capacidade funcional representa um paradigma no envelhecimento saudável, pois entende-se que o completo bem-estar é passível de ser mantido ao longo do tempo, mesmo na presença de doenças e, portanto, uma pessoa idosa saudável seria aquela que mantém uma interação positiva entre saúde física, saúde mental, independência, integração social, suporte familiar e independência econômica<sup>3</sup>.

As dimensões ambientais e sociais podem afetar a manutenção de comportamentos saudáveis ao longo da vida<sup>4</sup> que, em última instância, contribuem para prolongar a independência e autonomia<sup>1</sup>. Particularmente em relação à alimentação, padrões alimentares e alimentos ou nutrientes específicos tem impacto no metabolismo muscular<sup>5</sup>, performance física<sup>6</sup> e prevenção da sarcopenia<sup>7,8</sup> e da fragilidade<sup>9,10</sup>; em marcadores inflamatórios<sup>11-14</sup>; na saúde mental<sup>15,16</sup>; na saúde óssea<sup>17,18</sup> e, portanto, na prevenção e tratamento de doenças altamente prevalentes<sup>19-26</sup>. Por estes motivos, a nutrição adequada está intrinsecamente relacionada à menor morbimortalidade geral e aumento da expectativa e qualidade de vida da população idosa<sup>27-29</sup>.

No que tange aos minerais, é sabida a capacidade de modular tanto o acúmulo de danos quanto as vias metabólicas notoriamente alteradas durante o processo de envelhecimento, como as que regulam a inflamação e o estresse oxidativo<sup>30</sup>. Ademais, são elementos que participam na prevenção da sarcopenia, e, conseqüentemente, podem estar associados à manutenção da funcionalidade<sup>31</sup>. Os minerais, portanto, potencialmente favorecem o envelhecimento saudável - relação que carece de maior elucidção<sup>32</sup>.

Neste cenário, o zinco (Zn) pode ter papel fundamental uma vez que exerce funções metabólicas, estruturais, catalíticas e regulatórias, cujo maior efeito se dá sob a modulação da resposta, proliferação e sobrevivência das células T através de sua influência na transdução de sinal

de citocinas, em fatores de transcrição e na ativação de moléculas de sinalização. Assim, a deficiência de Zn no envelhecimento pode estar associada à imunossenescência, bem como, à fragilidade<sup>33</sup>.

Por sua vez, o cobre (Cu) também exerce um importante papel no sistema imunológico já que é fundamental para o transporte de elétrons, reticulação de colágeno e elastina, oxidação de ferro e síntese de melanina e de neurotransmissores<sup>34</sup>. Ademais, o Cu atua sinergicamente com o Zn em várias metaloenzimas como a superóxido dismutase (SOD)<sup>35</sup>.

Em pessoas idosas, estão presentes sinais inflamatórios e hormonais que favorecem a manutenção e o reparo de tecidos em detrimento da promoção do crescimento e reprodução. No que tange ao estado inflamatório de baixo grau presente no envelhecimento, denominado *inflammaging*, sabe-se que este é provavelmente sustentado pela ativação progressiva das células imunes ao longo do tempo. Em conjunto, estas mudanças parecem induzir uma diminuição de Zn e um aumento de Cu plasmáticos como parte de um mecanismo cujo objetivo seria o aperfeiçoamento da defesa antioxidante. Entretanto, o aumento da razão Cu/Zn (RCZ) é visto como uma tentativa furtiva de modular a resposta imune comprometida, caracterizada pelo aumento de células imunológicas disfuncionais, e evitar a degeneração de tecidos<sup>36</sup>. Ademais, a RCZ está relacionada à carga oxidativa sistêmica<sup>37</sup> e à perda da capacidade funcional. Não está claro, no entanto, se o aumento crônico desta razão causa efeitos deletérios por si só ou se os fatores que impulsionam seu aumento a tornam um potencial marcador de morbimortalidade na população idosa<sup>36</sup>.

Nesse contexto, conhecer o estado nutricional relativo ao Cu e ao Zn, bem como a razão entre estes, em uma amostra de idosos longevos poderá contribuir para maior elucidação do perfil destes micronutrientes no envelhecimento saudável.

## 2. INTRODUÇÃO

### 2.1 O envelhecimento saudável e longevidade

Devido a transição demográfica mundial, processo reconhecidamente irreversível, o envelhecimento populacional é uma preocupação para a saúde pública global<sup>1,38,39</sup>, já que a população com mais de 65 anos passa por um crescimento mais acentuado do que os demais grupos etários<sup>40</sup>. Este processo provoca alterações na vida dos indivíduos, de seus familiares e comunidade, bem como, na demanda de políticas públicas e alocação de recursos financeiros<sup>41,42</sup>.

Em 2022, haviam 1,1 bilhão de pessoas idosas no mundo, representando um em cada dez habitantes com idade superior a 65 anos, enquanto em 2050, é apontada a projeção de um para cada seis, equivalendo à 16% da população. A projeção para a população com idade superior a 80 anos é um salto de 157 milhões em 2022 para 459 milhões em 2050<sup>43</sup>. No Brasil, a inversão da estrutura etária da população representa uma importante transformação no padrão demográfico e é resultado do declínio da mortalidade infantil e tardia<sup>42</sup>, sendo a última majoritariamente decorrente, por sua vez, da implementação de políticas públicas de prevenção e tratamento de doenças<sup>44,45</sup>. Segundo as projeções do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), a expectativa de vida ao nascer em 2023 é de 77,4 anos, sendo que em 10, 20 e 30 anos teremos, respectivamente, uma expectativa de 79,05, 80,09 e 80,74 anos<sup>2</sup>.

De acordo com o Estatuto da Pessoa Idosa, é definida como idosa a pessoa que tem 60 anos ou mais de idade<sup>46</sup>. Com relação ao percentual deste grupo etário, em 2023 temos 15,58%, isto é, 33,6 milhões de pessoas, e em 30 anos, teremos 29,63%<sup>2</sup>. Atualmente o país encontra-se em 6º lugar no que tange ao tamanho de sua população idosa<sup>43</sup>. Ressalta-se que um aspecto demográfico observado neste público é a concentração de mulheres denominada como feminização do envelhecimento. Outro fator importante é a distribuição de pessoas idosas entre as regiões do Brasil, onde se destacam o Sudeste e o Sul como as de maior concentração<sup>47</sup>. Além disso, os idosos considerados longevos, com idade superior a 80 anos, corresponderão a 3,48%, 5,23% e 6,99% em 10, 20 e 30 anos, respectivamente, seguindo a tendência de um maior contingente de mulheres<sup>2</sup>.

Este rápido envelhecimento populacional aumenta a carga de doenças, principalmente das doenças e agravos não transmissíveis (DANTs),<sup>48</sup> e de indivíduos vivendo com incapacidades<sup>49</sup>. No entanto, apesar do risco aumentado para doenças com o avanço da idade, indivíduos idosos com

comorbidades podem apresentar uma boa qualidade de vida, pois quando estas estão sob controle, não limitam atividades ou a participação social e pouco influenciam em seu bem-estar. Este, por sua vez, é o resultado do processo de manutenção da funcionalidade global, que caracteriza o envelhecimento saudável<sup>50</sup>. Desta forma, a condição de autonomia e independência prediz a saúde do idoso mais do que a ausência de doenças<sup>51</sup>.

A funcionalidade global é definida como a capacidade de gerir a própria vida e cuidar de si<sup>52</sup> e é composta pela capacidade intrínseca e por fatores ambientais significativos e a interação entre eles. A capacidade intrínseca compreende capacidades mentais e físicas que são influenciadas por outros aspectos como a presença de enfermidades, lesões e outras alterações relacionadas à idade. O ambiente consiste, em micro e macroperspectiva, no lar, na comunidade e na sociedade, onde as relações, o acesso à saúde, e políticas públicas são relevantes<sup>50</sup>. Já a autonomia, definida como a capacidade individual de decisão e comando, estabelecendo e seguindo as próprias regras, está relacionada à cognição que é necessária para compreensão e resolução de problemas e ao humor (motivação). A independência, por sua vez, é conceituada como a capacidade de realizar algo com os próprios meios, estando interligada à mobilidade, que compreende o deslocamento e manipulação do meio, e à comunicação<sup>52</sup>.

A idade avançada, portanto, não está diretamente relacionada à perda de satisfação geral com a vida, pois esta é impactada por fatores ambientais mais amplos do que o risco aumentado de doenças e as mudanças sociais que ocorrem na velhice. A capacidade de reparo em meio às agressões está associada a abordagens que reforçam a recuperação, a adaptação e o crescimento psicossocial de idosos<sup>53</sup>. Neste contexto, a resiliência é caracterizada pela autodeterminação, senso de controle e suporte social<sup>54</sup> e descrita como uma abordagem comportamental positiva<sup>55</sup>, fruto de processos sociais e psíquicos que, por meio de estratégias de enfrentamento, geram adaptabilidade frente às adversidades<sup>56</sup>.

De acordo com Tavares et al. (2017), a perspectiva da própria pessoa idosa acerca do envelhecimento saudável abrange a dimensão biológica, onde a alimentação saudável e a ausência de sedentarismo, etilismo e tabagismo destacam-se; a dimensão psicológica, onde o otimismo e a felicidade foram citados; a dimensão espiritual, onde a fé e a espiritualidade sobressaem; e a dimensão social, onde as relações com a família e amigos ou atividades de lazer comunitárias, bem como viver com autonomia e independência foram consideradas mais relevantes<sup>57</sup>.

Similarmente, Abud et al. (2022) identificou dez determinantes interdependentes para o envelhecimento saudável: atividade física, dieta, autoconsciência, perspectiva, aprendizagem ao longo da vida, fé, apoio social, segurança financeira, envolvimento com a comunidade e independência, sendo o último um determinante de sobreposição, presente na esfera física, mental e social. Por este motivo, o envelhecimento saudável não pode ser lido como um processo homogêneo e universal, mas sim como o equilíbrio entre os determinantes que variam de acordo com a cultura, sexo e idade<sup>58</sup>.

A análise da influência de fatores comportamentais, sociais e ambientais que compõe as doenças crônicas mais prevalentes em pessoas idosas é fundamental<sup>59</sup>. Os aspectos nutricionais que parcialmente culminam em um maior risco de perda funcional e morbimortalidade podem ser modificados mesmo em idosos longevos<sup>60</sup>. Neste cenário, a deficiência de minerais, micronutrientes que constituem um pilar fundamental na nutrição de pessoas idosas e exercem funções biológicas amplas e fundamentais, pode levar a um comprometimento da função de órgãos<sup>61</sup>. É de grande interesse, então, que investiguemos o estado nutricional de minerais como o Zn e o Cu em uma população longeva.

## 2.2 Zinco e o envelhecimento saudável

O Zn é um dos mais importantes e abundantes oligoelementos presentes no organismo, atuando principalmente como catalisador de reações presente em mais de 300 enzimas; elemento estrutural fundamental para o correto funcionamento das proteínas de ligação; e íon regulador implicado em todos os níveis de transdução de sinal celular, incluindo crescimento, proliferação e apoptose. Nesse contexto, o Zn regula a expressão de citocinas, atenua a resposta inflamatória e, indiretamente, atua reduzindo o estresse oxidativo a partir da contenção de espécies reativas de oxigênio (ERO's) mantendo, então, a integridade do DNA<sup>62</sup>. Ademais, estudos recentes demonstraram seu papel no metabolismo de lipídios e da glicose, regulando a expressão da insulina, o que o torna um elemento chave para a prevenção da síndrome metabólica<sup>63</sup>.

Durante a digestão, o Zn é liberado dos alimentos na forma de íons livres que podem ser quelados a aminoácidos ou reconhecidos na sua forma divalente na borda em escova antes do seu transporte para os enterócitos no duodeno e jejuno<sup>64</sup>. O metal é absorvido no intestino delgado, especialmente no jejuno, por mecanismo mediado por transportadores e também por difusão simples.

Quando administrado na forma de soluções aquosas, em indivíduos em jejum, o Zn é absorvido de forma eficiente (60-70%) e em menor proporção (30%) em dietas sólidas. A absorção varia em função da concentração luminal do micronutriente e da composição da dieta<sup>65</sup>. Outro fator que influencia a absorção do mineral é o seu estado nutricional, sendo que indivíduos com deficiência o absorvem com maior eficiência. O sistema porta transporta o Zn absorvido diretamente para o fígado e, então, o libera para a circulação sistêmica<sup>66</sup>.

Cerca de 70% do Zn em circulação está ligado à albumina (ALB) e qualquer condição que altere a concentração da mesma, pode ter efeito secundário nos níveis séricos desse elemento. Embora o Zn sérico represente apenas 0,1% do Zn total do organismo, o mineral circulante é o grande responsável por manter o pool disponível para reposição aos tecidos<sup>65</sup>. O biomarcador mais comumente utilizado para avaliar o estado nutricional relacionado ao Zn é a sua concentração plasmática<sup>67</sup> embora haja controvérsias sobre a confiabilidade deste parâmetro bioquímico, já que os níveis séricos deste mineral podem ser reduzidos na presença de uma resposta inflamatória sistêmica<sup>68</sup>. Alguns autores sugerem associá-los a outros indicadores, como a ingestão alimentar, o Zn eritrocitário, Zn no cabelo e a medida de atividade de enzimas Zn-dependentes<sup>69,70</sup>

O Zn tem sua homeostase controlada nos mamíferos por proteínas transportadoras, responsáveis pelo influxo e efluxo celular do mineral, pelas vesículas retentoras do mineral (zincossomos) e por sua ligação a proteínas como as metalotioneínas (MTs), normalmente encontradas no interior das células, desempenhando papel citoprotetor. As MTs podem ligar-se até 15% do Zn<sup>2+</sup> celular e liberá-lo durante o estresse oxidativo. As proteínas transportadoras fazem parte da família ZnT (SLC30) ou Zip (SLC39), sendo a primeira responsável pelo transporte do mineral do citoplasma para fora da célula (efluxo) ou para vesículas intracelulares e a segunda atua no sentido contrário, ou seja, no influxo do Zn<sup>71</sup>.

O Zn pode apresentar-se nos tecidos nas formas livre e ligada conferindo efeitos diferentes nas MT e em um dos grupos mais abundantes de proteínas, as proteínas dedo de Zn<sup>72</sup>, que desempenham inúmeros papéis moleculares em processos metabólicos e na transcrição gênica<sup>73</sup>. Os íons de Zn possuem papel estrutural em 10% de todas as proteínas de mamíferos<sup>74</sup>. Em sua forma livre (biodisponível, rapidamente permutável ou lábil), o íon de Zn representa uma fração de ligação fraca capaz de induzir rapidamente trocas de ligantes. É especialmente vulnerável à remoção de sítios ligantes por elementos mais eletronegativos como o Cu<sup>75</sup>.

O conteúdo total de Zn no corpo humano é de 2 a 4 g, dos quais 95% são intracelulares, com pequeno pool plasmático de 13,8 a 22,9  $\mu\text{M/L}$  e rápido turnover<sup>76</sup>. Segundo Duarte, Reis e Cozzolino (2020), o Zn está armazenado em diversos órgãos, tecidos e fluidos do corpo humano, principalmente no músculo esquelético (cerca de 63%)<sup>77</sup>, além de estar presente no fígado (3%) e no baço (<1%)<sup>78</sup>.

Os alimentos com maior densidade de Zn (mg/kcal) provêm de fonte animal, como as carnes, aves e frutos do mar, especialmente cordeiro, crustáceos, vísceras bovinas e moluscos<sup>79</sup>. Entretanto, são alimentos caros, não representativos de vários padrões alimentares e/ou perecíveis. Por isso, grande parte do Zn consumido no mundo provêm de alimentos de fonte vegetal como os cereais ou do leite e seus derivados, apesar do baixo teor ou biodisponibilidade deste mineral nessas matrizes alimentares<sup>80,81</sup>. Como consequência, deve-se enfatizar a diminuição do consumo de inibidores de sua absorção, como os fitatos e taninos, através de técnicas como o remolho e a germinação. A fortificação de alimentos com Zn também representa uma boa opção ainda a ser estudada<sup>80</sup>.

Com relação à recomendação para a ingestão diária de Zn, para indivíduos com mais de 70 anos, esta é de 11 e 8 miligramas para pessoas do sexo masculino e feminino, respectivamente<sup>82</sup>. Já com relação ingestão efetiva de Zn, de acordo com os dados da Pesquisa de Orçamentos Familiares (POF), a média em homens com idade superior a 60 anos passou de 11,5 mg em 2008-2009 para 10,9 mg em 2017-2018 e sua inadequação foi mais expressiva neste mesmo período (39,0% vs 33,5% em 2008-09). Mulheres idosas também apresentaram redução na sua ingestão de 9,5 mg para 8,6 mg, e o percentual de ingestão insuficiente aumentou expressivamente de 23 para 31,4%<sup>83,84</sup>.

O diagnóstico da deficiência deste oligoelemento se baseia na concentração sérica (valores de Zn plasmático inferiores a 70  $\mu\text{g/dL}$ )<sup>85</sup>, todavia, esta homeostase é cuidadosamente ajustada por mecanismos compensatórios. Os fenômenos que alteram os níveis plasmáticos de Zn estão mais relacionados à natureza inflamatória de baixo grau do envelhecimento e outras condições<sup>36</sup>. Esta alteração pode se dar de maneira subliminar uma vez que ajustes metabólicos em enzimas zinco dependentes podem diminuir a demanda pelo metal e alterar a redistribuição de pools de Zn<sup>86</sup>. Podemos citar também as alterações intestinais, bem como na mastigação e nas estruturas orais (como a presença de doenças periodontais ou a ausência/inadequação de próteses levando à substituição de alimentos duros ricos em Zn por alimentos macios pobres em Zn), e as interações medicamentosas e com outros minerais ou vitaminas como possíveis causas para que a absorção de Zn seja até 20% menor em pessoas idosas quando comparadas à adultos<sup>87</sup>. Ademais, a excreção urinária de Zn também

é aumentada na velhice<sup>88</sup>, possivelmente devido à uma diminuição da absorção de Zn, que pode refletir uma necessidade diferenciada deste mineral por estes indivíduos em comparação à adultos<sup>89</sup>.

O estudo europeu ZincAge, realizado com 853 pessoas entre 60 e 84 anos, aponta que 31% dos participantes apresentavam deficiência marginal de Zn (definida como concentrações plasmáticas de Zn menores que 72 ug/dL) e que o baixo consumo de alimentos fonte deste mineral esteve associada à maiores níveis de deficiência<sup>90</sup>. Em contrapartida, o estudo ZENITH, indica, em uma subamostra de 199 indivíduos com idade entre 70 a 85 anos, um percentual de 5,6% de deficiência de Zn (considerada como níveis inferiores a 70 ug/dL). Consistente a esse achado, a porcentagem de indivíduos que ingeriram menos de 2/3 da RDA europeia foi de apenas 3,55%<sup>91</sup>.

Quanto à deficiência de Zn, a alteração mais frequente se dá em relação ao prejuízo da resposta imune, inata e adaptativa, com distúrbio do sistema antioxidante, refletindo no aumento de processos infecciosos e inflamatórios, mas também no desenvolvimento fisiopatológico de múltiplas doenças crônicas frequentes em pessoas idosas<sup>92</sup>. A coexistência desta deficiência e das alterações neuroendócrinas, como a alteração na regulação de glicocorticóides, dehidroepiandrosterona, catecolaminas<sup>93</sup> e hormônios tímicos<sup>94</sup>, que levam à uma desregulação em processos inflamatórios imunomediados no indivíduo idoso, impacta na apoptose com altos níveis de MT resultando na diminuição de Zn intracelular livre<sup>63</sup>.

A população idosa é um dos grupos que parece ter uma alta incidência de deficiência leve de Zn<sup>95</sup>, com valores plasmáticos de Zn entre 40 a 60 ug/dL<sup>96</sup>. Este grau deficitário pode estar associado a prejuízos no paladar e olfato, imunidade reduzida<sup>97</sup> e risco aumentado de pneumonia e outras infecções<sup>98,99</sup>. Já em casos de deficiência grave de Zn (< 40 ug/dL) podem ocorrer diminuição da função linfocitária, perda de cabelo, diarreia, impotência, comprometimento da função visual até lesões nos olhos, como as úlceras de córnea<sup>100</sup>, lesões cutâneas, anorexia com subsequente perda de peso, retardo na cicatrização, letargia mental e anemia<sup>92,101</sup>.

Os fatores relacionados ao envelhecimento que podem diminuir o Zn plasmático são: (1) diminuição dos níveis séricos de ALB devido à inflamação de baixo grau<sup>102</sup> e (2) acúmulo de Zn no fígado, timo e medula óssea, como apoio à produção de células hematopoiéticas na medula óssea e à resposta proliferativa de linfócitos, bem como para reduzir o crescimento de eventuais patógenos invasores<sup>103,104</sup>. Vale ressaltar que Alberro et al. (2021) encontraram redução dos níveis séricos de

ALB e aumento de marcadores inflamatórios como proteína C reativa (PCR), fator de necrose tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ) e interleucina-6 (IL-6) tanto em idosos robustos quanto em idosos frágeis, o que nos leva a repensar o valor prognóstico da inflamação enquanto um processo característico e específico da fragilidade<sup>102</sup>. Outros estudos também demonstraram associação inversa entre idade e albuminemia<sup>105,106</sup>.

No que se refere ao distúrbio do sistema oxidante, podemos observar seu efeito na degeneração muscular. A ingestão de Zn (ajustada à ingestão de calorias) foi um preditor positivo de mudança na massa magra apendicular (MMA) avaliada por absorciometria de raios-X de dupla energia (DEXA) em todas as análises transversais e longitudinais, ajustadas para idade, sexo, atividade física, mudança na gordura corporal e na ingestão de proteínas feitas a partir de dados de uma coorte prospectiva com 740 indivíduos de 50 a 79 anos, cujo follow-up foi de  $2,6 \pm 0,4$  anos. Neste estudo, o consumo de Zn foi associado à massa muscular e à taxa de perda muscular (mas não à força muscular)<sup>107</sup>. Waters e colaboradores (2014) demonstraram a relação entre a muito baixa ingestão de Zn e a velocidade de marcha, onde uma ingestão menor que 1 mg/dia foi associado à lentidão ( $p < 0,1$ ). Ao comparar o quartil mais baixo de ingestão de Zn (com valores de ingestão acima dos preconizados pelo Instituto de Medicina dos EUA) aos três quartis mais altos de ingestão, a menor ingestão de Zn foi um fator de risco para velocidade de marcha mais lenta em homens (OR 3,57 (1,14, 11,18) e em mulheres (OR 2,33 (1,12, 4,85)<sup>108</sup>. Ainda não há uma explicação clara para esses achados, porém, é possível que a ação do Zn na neutralização de ERO's atenua as modificações pós-traducionais induzidas por estas substâncias e auxilie na manutenção do ambiente redox do músculo, resultando em uma menor perda de quantidade e qualidade muscular<sup>109</sup>. De forma geral, a ingestão de Zn no contexto da prevenção e tratamento da sarcopenia também carece de ampla investigação.

Atualmente, a literatura também se debruça sobre o papel do Zn na neurodegeneração, visto que o Zn citoplasmático liberado pela oxidação de proteínas ligantes via produção de ERO's gera uma resposta imune descontrolada no cérebro e leva a prejuízos funcionais às mitocôndrias com geração de mais espécies reativas, caracterizando, assim, um ciclo vicioso<sup>110</sup>. Esse dano oxidativo representa apenas uma das diversas vias que, em última instância, podem levar a lesões neuronais através da regulação positiva de mediadores inflamatórios<sup>111</sup>. Neste cenário, a deficiência de Zn pode estar atrelada a um comprometimento cognitivo e a doenças neurodegenerativas, como Alzheimer e Parkinson<sup>112</sup>.

Pacientes idosos depressivos apresentaram menor ingestão e concentração plasmática de Zn quando comparados à controles<sup>113</sup>. O Zn plasmático também foi correlacionado com a subcategoria de concentração medida com o teste Mini Exame do Estado Mental (MEEM)<sup>114</sup>, ao risco de comprometimento cognitivo leve<sup>115</sup>, a diversas variáveis psicológicas como humor e nível de estresse<sup>90</sup> e ao comprometimento da memória e a sintomas depressivos<sup>116</sup> em outros grupos de idosos. Vale ressaltar que pacientes polimedicados (com administração concomitante de 5 ou mais fármacos) demonstraram redução significativa de Zn sérico<sup>114</sup>.

O Zn também desempenha importante papel no metabolismo ósseo pois estimula a formação óssea osteoblástica e inibe a reabsorção óssea osteoclástica, aumentando a massa óssea. Ademais, o Zn está concentrado na camada de osteóide antes da calcificação; pode aumentar a atividade da fosfatase alcalina e a expressão do fator de transcrição 2 relacionado a runt; e inibe a formação de células semelhantes a osteoclastos induzida pelo ativador do receptor do ligante do fator nuclear kappa- $\beta$  e na osteoclastogênese induzida pelo TNF- $\alpha$ . Por estes fatores, a deficiência de Zn tem sido apontada como fator de risco para a osteoporose (Zheng et al., 2014)<sup>117</sup>.

### 2.3 Cobre e o envelhecimento saudável

O Cu, cuja forma divalente é mais presente no corpo humano, é um cofator essencial para reações de oxi-redução envolvendo proteínas que atuam na produção de energia, no metabolismo do ferro e na neurotransmissão<sup>118,119</sup>. É necessário também para amidação de peptídeos, formação de pigmentos, resistência do tecido conjuntivo, defesa antioxidante (fazendo parte da Cu,Zn-SOD)<sup>119</sup> e metabolismo de gorduras, especialmente lipoproteínas, sendo um elemento cada vez mais implicado com os marcadores de saúde cardiovascular<sup>118</sup>.

Trata-se de um metal essencial à saúde humana, presente em proteínas e enzimas de importância biológica. É um membro da terceira série de transição de elementos químicos com número 29 e peso atômico 63n, possuindo grande capacidade de variação entre as suas formas oxidadas e reduzidas. É mais eletronegativo que outros membros da mesma família - fato que o torna um íon de coordenação com elevado grau de importância biológica<sup>120</sup>. Em grande parte, esta importância se dá pela sua função catalítica, constituindo o core das cuproenzimas que atuam como oxidases, além de fazer parte estrutural de algumas proteínas que têm papel estratégico em reações metabólicas do organismo<sup>121</sup>.

Existem basicamente três tipos de complexos metálicos de Cu: Cu (III), Cu (II) e Cu (I). O estado de oxidação +2 é o mais comum, e o +3 é bastante raro, ocorrendo apenas em alguns poucos compostos que geralmente são fortes agentes oxidantes. Os complexos de Cu (II) desempenham um papel importante nos sítios ativos de um grande número de metaloproteínas em sistemas biológicos e potencial aplicação para numerosos processos catalíticos em organismos vivos que envolvem reações de transferência de elétrons. Muito ativo como um bom doador de elétrons, o Cu forma ligações coordenadas entre si e os ligantes orgânicos, ocupando posição central do complexo, comportando-se como uma base de Lewis<sup>122</sup>.

Compostos de coordenação podem ser formados facilmente com os metais de transição (ácidos de Lewis) pois estes possuem orbitais d disponíveis que podem acomodar os pares de elétrons doados pelos ligantes. O número de ligações coordenadas formadas depende, sobretudo, do número de orbitais vazios de energia adequada. Os ligantes são considerados como base de Lewis, ou seja, fornecem elétrons (usualmente um par por ligante) para a espécie central (metal) que é um ácido de Lewis. O Cu possui a maior eletronegatividade dentre os metais de transição o que lhe confere as maiores constantes de dissociação e, portanto, a capacidade de varredura de outros metais, ocupando preferencialmente seus sítios de coordenação em biomoléculas<sup>123</sup>.

Curiosamente, o Cu pode atuar tanto como um antioxidante quanto como um pró-oxidante. Sua grande versatilidade como doador e receptor de elétrons torna-o um átomo com grande capacidade de estabilização de outros elementos, o que é uma propriedade capital para suas interações nos sistemas bioinorgânicos. Como antioxidante, o Cu elimina ou neutraliza os radicais livres e pode reduzir ou ajudar a prevenir alguns dos danos que espécies com elétrons livres causam, por exemplo, a membranas ou organelas celulares<sup>124</sup>.

Em contrapartida, quando o Cu atua como pró-oxidante, juntamente à alteração de seu transporte, com acúmulo no plasma e depleção no cérebro, pode promover danos e contribuir para o desenvolvimento de doenças neurodegenerativas como Alzheimer<sup>125</sup>. Em estudo longitudinal experimental, a captação cerebral de Cu por ratos aos 26 meses de idade ( $0.14 \pm 0.04$  % dose/grama de tecido) foi significativamente menor do que a captação por ratos de 13 meses ( $0,17 \pm 0,05$ )<sup>126</sup>. Manter ingestões dietéticas adequadas de Cu e de outros minerais como Zn e manganês é fundamental para o equilíbrio entre essas espécies doadoras e/ou receptoras de elétrons e a respectiva possibilidade de formação ou neutralização de radicais livres<sup>124</sup>.

Mais especificamente em relação ao envelhecimento e o metabolismo do Cu, observou-se os seguintes fatores com tendência a alteração: (1) aumento da transcrição hepática de ceruloplasmina (CP) via FOXO1 devido ao aumento de citocinas como IL-6<sup>127</sup>; (2) o aumento de CP por desequilíbrio no metabolismo de Fe (cuja atuação se dá na conversão de Fe<sup>2+</sup> (tóxico) em Fe<sup>3+</sup>, impedindo seu acúmulo)<sup>128</sup>; (3) a proteção quanto à produção de oxidante pela mieloperoxidase em condições de estresse, presentes em algumas doenças relacionadas ao envelhecimento<sup>129</sup> e (4) a neutralização da disfunção fagocitária de macrófagos evitando degeneração dos tecidos. Estes fatores levam ao aumento de Cu sérico relacionado ao envelhecimento<sup>130</sup>. No Quadro 1 encontram-se listadas as principais enzimas e proteínas estruturais dependentes da ligação do Cu e suas funções no organismo.

Quadro 1 - Nomenclatura, localização em compartimentos do organismo e funções das cuproenzimas e de proteínas cobre dependentes

| <b>Cuproenzimas/<br/>proteínas</b>          | <b>Localização</b>  | <b>Funções</b>   |
|---|---|--|
| Ceruloplasmina (CP)                         | Plasma  | É o principal transportador do Cu no plasma. Estimula a oxidação de Fe <sup>2+</sup> em Fe <sup>3+</sup> , essencial a ligação do ferro à transferrina. Além de ser antioxidante, distribui ferro orgânico dos órgãos. |
| Citocromo C oxidase                         | Mitocôndrias  | Promove a produção de adenosina trifosfato (ATP), catalisando a redução de O <sub>2</sub> para H <sub>2</sub> O na mitocôndria. Atua no transporte de elétrons.  |
| Citocromo C oxidase chaperona de Cu (COX17) | Mitocôndrias  | Montagem do complexo Citocromo C oxidase   |
| Cu/Zn SOD                                   | Citoplasma das células, cérebro, eritrócitos, fígado, tireóide e hipófise | Participa na defesa contra danos oxidativos provocados pelo radical superóxido.  |
| Chaperona de Cu para a Cu/Zn SOD (CCS)      | Trato gastrointestinal, Fígado  | Homeostase de Cu   |

|  |                               |  |
|--|-------------------------------|--|
| Transportador de Cobre ATPase 1 e 2 (ATP7A, ATP7B) | Todas as células do organismo | Homeostase de Cu   |
| Proteína transportadora de Cu ATOX1 (ATOX1)        | Citosol                       | Homeostase de Cu   |
| Diamina oxidase                                    | Todas as células do organismo | Possui atividade intensa no intestino delgado, placenta e rins. Inativa a histamina liberada durante as reações alérgicas e poliaminas envolvidas na proliferação celular. |
| Dopamina beta-hidroxilase                          | Cérebro e glândula renal      | Acelera a conversão de dopamina em norepinefrina.  |
| Hefestina (ferroxidase II)                         | Membranas                     | Proteína altamente ligada à membrana celular, muito expressa no intestino delgado. Participa do metabolismo do ferro em sítios específicos, captando ferro da dieta.       |
| Lisil oxidase                                      | Colágeno e elastina           | Atua no colágeno e na elastina, essencial na formação do tecido conjuntivo dos ossos, pulmões e vasos sanguíneos.  |
| Manganês-zinco superóxido dismutase                | Mitocôndrias                  | Participa na defesa contra danos oxidativos provocados pelo radical superóxido.  |
| MTs  | Enterócitos, fígado e rins    | Proteína que possui cisteína em abundância, que liga zinco, cádmio e Cu, além de sequestrar íons de metais e previne toxicidade.   |
| Monoamina oxidase                                  | Todas as células do organismo | Atua no metabolismo das catecolaminas e degrada a serotonina.  |
| Tirosinase   | Olhos e pele                  | Auxilia na síntese da melanina, catalisa a conversão de tirosina para dopamina.  |
| Transcupreína                                      | Plasma                        | Atua no transporte do Cu no plasma.  |

Cu: cobre; Fe<sup>2+</sup>: íon ferroso; ATP: adenosina trifosfato; O<sub>2</sub>: oxigênio; H<sub>2</sub>O: água; Cu/Zn SOD: cobre-zinco superóxido dismutase. Fonte: Adaptado de Olivares et al., 2018<sup>131</sup>; Schwarzschild & Medeiros, 2013<sup>132</sup>.

A homeostase do Cu ocorre em duas vias: intra e extracelular. Inicialmente, o Cu presente no lúmen intestinal é reduzido e captado pelo transportador de Cu 1 (CTR1) na borda em escova. O CTR1 funciona como um homotrímero que permite formar um poro e atuar como um canal de íons para facilitar o transporte de Cu através da membrana plasmática<sup>133</sup>. Alguns outros transportadores também podem contribuir para a captação desse nutriente como os transportadores de Cu adicionais (como o CTR2) e o transportador de metal divalente 1, embora não sejam eficazes para compensar a perda da função do CTR1. A passagem do íon cúprico (Cu I) pelo citoplasma até a membrana basolateral da célula é mediada principalmente pela MT. Estas distribuem o metal para proteínas transportadoras denominadas chaperonas que entregam o íon metálico a vários compartimentos subcelulares onde é usado para amadurecer cuproenzimas como a COX17 que fornece Cu às mitocôndrias para a biossíntese da citocromo C oxidase, pertencente à cadeia de transporte de elétrons. Outro substrato de ligação ao Cu, a ATOX 1, transporta o mineral para os seus transportadores ATP7A (Adenosina trifosfatase alpha) e ATP7B (Adenosina trifosfatase beta), localizados na rede trans-Golgi. Estas ATPases regulam a distribuição do mineral para a membrana plasmática onde promovem a sua exportação da célula para o espaço extracelular, predominantemente para o sistema porta hepático. Uma vez no sistema porta, o Cu é carregado principalmente à ALB e transcupreína<sup>134</sup>.

Posteriormente, o Cu I é captado principalmente pelo fígado, que pode incorporá-lo ao pool de síntese das cuproenzimas ou secretá-lo para a vesícula biliar, exercendo assim o controle homeostático sobre o Cu extra-hepático. No fígado, cerca de 95% do Cu se liga à CP para ser distribuído aos tecidos periféricos na forma de íon cuproso (Cu II). Sua via de excreção principal é a bile, além da fração alimentar não absorvida e remanescentes da descamação das células<sup>135</sup>.

De forma semelhante à absorção nos enterócitos, o CTR1 importa Cu para o interior do hepatócito, onde o mineral se liga a chaperonas, a exemplo da CCS (Copper-delivering chaperone required for SOD) e ATOX 1. Sendo que esta última conduz o Cu para o ATP7B, transportador que se concentra principalmente na rede trans-Golgi, onde o mineral é incorporado à CP e então secretado na circulação sanguínea<sup>136</sup>. Ressalta-se que quando as concentrações de Cu no hepatócito aumentam, o ATP7B se transloca em direção à membrana apical da célula no componente vesicular acitoplasmático para facilitar a excreção do excesso do mineral na bile. Nessa situação, o Cu pode se

complexar com sais biliares e se tornar não biodisponível, da mesma forma que ocorre com o Cu dietético que não é absorvido e, assim, perdido nas fezes em concentrações em torno de 1 mg/dia<sup>137</sup>.

Fígado, mariscos e nozes são boas fontes de Cu, mas batatas, grãos integrais, sementes, legumes, cogumelos, outros crustáceos, carne e chocolate também podem contribuir para a ingestão diária de Cu, cuja absorção fica em torno de 20% a 50%<sup>118</sup>. A ingestão diária recomendada de Cu para indivíduos com idade superior a 70 anos é de 0,9 miligramas para ambos os sexos<sup>82</sup>. Segundo os dados da última POF 2017-2018, em homens com mais de 60 anos de idade, observa-se a ingestão média de Cu de 1,4 mg (valor semelhante ao encontrado em 2008-2009), com um percentual de inadequação de 4,5%, 1,9% menor em relação ao valor encontrado na POF anterior, ambos considerados baixos. Para mulheres acima de 60 anos, a POF de 2017-2018 encontrou uma média de ingestão de 1,1 mg (aumento de 100µg com relação à 2008-2009), com 11,9% das participantes tendo consumo inadequado de Cu, enquanto na POF anterior observamos um percentual de inadequação maior, de 15%<sup>83,84</sup>.

De acordo com a OMS, os valores normais de Cu no sangue variam de 80 a 120 µg/dL, portanto, a deficiência é detectada quando as concentrações são menores que o limite inferior, preferencialmente havendo associação com baixos níveis séricos de CP (< 20 mg/dL), principal proteína transportadora de Cu<sup>138</sup>. Já Gromadzka, Grycan & Przybyłkowski (2023) indicam valores de referência de Cu plasmático entre 70 a 155 ug/dL<sup>139</sup>, adotados no presente estudo por serem advindos de estudos mais atuais e robustos. Ademais, a coleta de urina de 24 horas é uma boa ferramenta complementar para o diagnóstico desta carência<sup>118</sup>.

O Cu plasmático e a CP podem detectar a deficiência do metal à medida que esses marcadores diminuem significativamente em estados mais agudos de depleção. No entanto, algumas evidências questionam a adequação desses índices na detecção de depleções leves de Cu que podem representar riscos à saúde. Alguns trabalhos sugerem que o desequilíbrio de Cu pode estar associado ao diabetes mellitus (DM)<sup>140</sup>, deficiências cognitivas e doença de Alzheimer<sup>141</sup>. Maior ingestão de Cu em indivíduos idosos que consumiam uma dieta rica em gordura saturada ou gordura trans associou-se a uma taxa mais rápida de declínio cognitivo<sup>142</sup>.

O conteúdo de Cu na urina mostra limitações quanto à sua aplicabilidade como marcador para avaliar o estado nutricional de Cu em humanos. Entretanto, pode refletir a exposição ao Cu se

associado a parâmetros de ingestão do metal em certas situações, sendo relativamente simples de ser avaliado e viável do ponto de vista financeiro e analítico. Pode, portanto, ser aceito como indicador, mas carece de sensibilidade e não pode ser considerado ideal para medição precisa do Cu<sup>143</sup>.

Os estudos para a determinação da requisição média de Cu estimada pelo Instituto de Medicina dos EUA (Estimated Average Requirement – EAR; IOM) utilizaram quatro biomarcadores principais - a concentração plasmática de Cu, a concentração sérica de CP, a concentração e atividade da Cu/Zn SOD eritrocitária (SOD1) e a atividade e concentração plaquetária de Cu. A relativa facilidade com que Cu e CP plasmáticos podem ser medidos torna-os índices ainda mais comumente usados do estado nutricional de Cu em situações clínicas. A CP é a principal proteína transportadora de Cu no plasma e desempenha um papel importante no metabolismo do ferro. Como a maior parte do Cu no plasma está associada à CP (cerca de 90%), a deficiência de Cu induz reduções semelhantes neste marcador. Algumas razões justificam o uso desses indicadores. Ambos podem ser medidos com relativa facilidade, custo-benefício e precisão no plasma ou soro, obtidos com mínima invasividade e de forma estável, com pouca sensibilidade ao armazenamento e manipulações. Também possuem intervalos de referência estabelecidos na literatura e aceitos internacionalmente. Finalmente, devido à grande quantidade de pesquisas realizadas sobre esses marcadores, há amplo conhecimento de suas capacidades e limitações, o que minimiza a incerteza em seu uso (IOM, 2001)<sup>82</sup>.

No entanto, há que se considerar que fortes mecanismos homeostáticos atuam para manter o Cu plasmático dentro da faixa normal. Por este motivo, o Cu e a CP plasmáticos sozinhos podem não servir como biomarcadores sensíveis do estado nutricional de Cu e podem detectar depleções quando existe uma deficiência relativamente grave. Esse fato é apoiado por estudos que relatam depleção de Cu na ausência de alterações significativas no Cu ou na CP plasmáticos<sup>144</sup>.

O uso contínuo de marcadores convencionais para avaliar o estado nutricional do Cu ressalta um aspecto importante em relação ao desenvolvimento de seus biomarcadores. Para aceitação universal de um novo biomarcador, são necessários dados sobre a sensibilidade e especificidade e se o marcador reflete o estado corporal total ou a exposição aguda ao metal. Conhecimento das variações intra e interindividuais e o tecido ou tipo de célula mais apropriado para análise também são aspectos a serem considerados. Com os avanços de pesquisa em áreas como genômica, transcriptômica, metabolômica, proteômica e metaloproteômica, nossa capacidade de identificar e caracterizar novos biomarcadores do status de Cu deverá avançar, com o entendimento mais claro da magnitude das

variações em um determinado indicador ou conjunto de indicadores e sua associação com o estado de saúde e avaliação de riscos tanto de depleção quanto de excesso<sup>145</sup>.

Assim como o Zn, o Cu também é importante para a saúde óssea uma vez que atua na reticulação do colágeno e da elastina que participam da produção da matriz óssea. O Cu também melhora a viabilidade dos osteoblastos e estimula a diferenciação das células-tronco mesenquimais em relação à linhagem osteogênica<sup>117</sup>. Especialmente no que concerne ao envelhecimento, estudos como o de Ryl e colaboradores (2021), mostraram que tanto o conteúdo quanto a densidade óssea são positivamente impactados por uma maior proporção de Zn em comparação ao Cu, seja nos ossos ou no soro sanguíneo, em indivíduos idosos com diagnóstico de osteoartrite<sup>146</sup>.

#### 2.4 Razão Cobre/Zinco e o envelhecimento

Zn e Cu estão intimamente relacionados no que tange à ligação às MT, porque apesar do Zn induzir a síntese destas proteínas, o Cu entra na célula (deslocando o Zn de seus sítios de coordenação), devido à sua característica mais eletronegativa que resulta em uma ligação mais forte<sup>110</sup>. A RCZ, em face à uma intercorrência clínica, pode estar inversamente associada à recuperação da homeostase e, quando acima de dois, reflete um estado inflamatório. Por isso, há de se levar em conta a redução do Zn plasmático e/ou ALB, proteína majoritariamente responsável pelo seu transporte, bem como aumento de Cu plasmático e/ou CP<sup>36</sup>.

Ressalta-se que não existem parâmetros de pontos de corte desta relação bem estabelecidos para idosos longevos saudáveis. Entretanto, é sabido que, a partir de estudos caso controle em que os grupos controle são de adultos saudáveis, a média de RCZ se encontra próxima de 1<sup>147-150</sup>.

Um estudo com 1090 participantes idosos saudáveis e sem comprometimento funcional (média de idade de  $74.6 \pm 8.7$  anos) do projeto ZincAge apontou que um fator determinante da RCZ é a redução de Zn plasmático. A partir de um modelo de regressão linear múltipla, ajustado para os confundidores, esse decréscimo foi mais fortemente relacionado a idade, enquanto associações positivas foram encontradas com a ALB, o ligante de quimiocina 5 e a ingestão de Zn. Além disso, a RCZ foi diretamente associada com marcadores de inflamação sistêmica como a concentração plasmática de PCR e a velocidade de hemossedimentação (VHS) e idade e inversamente associada com níveis séricos de ALB<sup>151</sup>.

Níveis plasmáticos elevados de PCR e VHS também foram correlacionados com uma elevada RCZ, bem como a uma baixa concentração de ALB em estudo prospectivo (duração de 3.5 anos) com 218 indivíduos totalmente independentes com idade > 70 anos. Os resultados também apontaram que: (1) a RCZ foi maior em mulheres do que em homens e aumentou com o avançar da idade, com os níveis mais altos detectados em octo e nonagenários, resultado de um declínio progressivo de Zn plasmático; (2) RCZ foi significativamente maior em todos os grupos de idosos do que nos grupos de adultos jovens; (3) o tabagismo, a hipertensão arterial sistêmica (HAS) e a medicação anti-inflamatória não foram associados à RCZ; (4) octo e nonagenários com Índice de massa corporal (IMC) > 25 kg/m<sup>2</sup> apresentaram menor RCZ, (5) indivíduos com doença cardiovascular estável (DCV) apresentaram RCZ mais alta do que aqueles sem, especialmente pelo aumento de Cu; e, sobretudo, (6) indivíduos que morreram no intervalo de 3,5 anos de acompanhamento possuíam RCZ significativamente maior quando comparados àqueles que não faleceram ao longo do estudo. Ademais, a correlação entre RCZ e ALB, bem como IMC, sugerem que essas associações também são reguladas por componentes nutricionais em idosos mais longevos. Por isso, a RCZ pode ser considerada um importante indicador inflamatório-nutricional preditor de mortalidade por todas as causas em pessoas acima de 70 anos<sup>152</sup>.

Pesquisas que relacionam o desempenho cognitivo e o humor com a RCZ em indivíduos idosos com funcionalidade preservada ainda são escassas e apontam para resultados conflitantes. Em estudo que avaliou dados sobre Zn e Cu séricos advindos de 1065 participantes com idade superior a 60 anos do *National Health and Nutrition Examination Survey* (NHANES) 2011-2014 e os relacionou com quatro diferentes questionários de performance cognitiva (DSST, AF, CERAD-DR e CERAD-WL) observou uma associação entre moderados níveis séricos de Zn e Cu e baixa pontuação nos testes DSST e CERAD-WL e entre altos níveis de Zn e Cu e baixa pontuação no teste AF. Apesar disso, os autores enfatizam a necessidade de confirmação destes achados em estudos de coorte<sup>153</sup>.

Em uma amostra de 139 australianos com idade igual ou superior a 60 anos, não foram observadas relações entre Cu e Zn plasmáticos, bem como a RCZ, e o desempenho cognitivo (através da bateria Cogstate e do *Behavior Rating Inventory of Executive Function*). As associações positivas se deram entre altos níveis de Cu e RCZ e menores sintomas de depressão e ansiedade, avaliados a partir da Escala Hospitalar de Ansiedade e Depressão, não sendo confirmadas pela análise de regressão múltipla. Por fim, o Cu plasmático teve associação positiva modesta com o fator

neurotrófico derivado do cérebro, conhecido por desempenhar um papel importante na plasticidade cerebral por meio do estímulo ao crescimento e à manutenção dos neurônios<sup>35</sup>.

Tendo em vista que a perda de mobilidade é uma condição frequentemente relacionada ao envelhecimento e à diminuição da qualidade e/ou expectativa de vida, Younesi e colaboradores (2015) avaliaram níveis de Zn e Cu, escore de atividade de vida diária (AVD), densidade mineral óssea (DMO) do fêmur e status oxidante e antioxidante total entre um grupo de pacientes com incapacidade física (idade média de 76.6±9.2 anos) e um grupo controle (idade média de 77.1±8.6 anos). Em comparação com o grupo controle, o grupo de pacientes apresentou níveis séricos de Zn 47,5% menores e de Cu 10,8% maiores (sem diferença estatisticamente significativa), além de baixa DMO e uma RCZ 112,5% maior. Esta relação foi considerada uma ferramenta mais útil do que o uso isolado dos níveis de Zn e Cu para diferenciar o paciente com incapacidade. Foi encontrada também correlação positiva entre Zn, antioxidante total e DMO com o escore de AVD; e correlação negativa entre Cu/Zn e oxidante total com o escore de AVD, o que provavelmente significa que o aumento do estresse oxidativo e a diminuição da defesa antioxidante, causados pela desregulação da função celular e dano muscular via dishomeostase desses minerais, além do maior risco de desenvolvimento de osteoporose, foram fatores implicados na incapacidade física no grupo de pacientes<sup>154</sup>.

Cabe ressaltar que algumas condições favorecem uma alteração no metabolismo de Zn e/ou de Cu, como o diabetes mellitus, já que indivíduos com esta condição possuem menores níveis plasmáticos de Zn<sup>155</sup> em conjunto a um desequilíbrio no Cu plasmático, com excesso ou insuficiência, e maior excreção urinária de Cu, possivelmente devido à modulação de Cu(I)-ATPases pela insulina, glicosilação de proteínas-chave na homeostase do Cu e ao estresse oxidativo<sup>156</sup>. No contexto do alcoolismo também há uma possível diminuição dos níveis de Zn e de Cu no plasma<sup>157-159</sup> e nos eritrócitos<sup>158</sup> devido ao aumento da necessidade da defesa antioxidante contra danos causados pelo etanol<sup>159</sup>. Ademais, usuários de fármacos como furosemida e ácido valpróico podem cursar com um aumento da excreção urinária de Zn<sup>160,161</sup> e alto consumo de Zn devido à hepatotoxicidade e dano oxidativo<sup>162</sup>, respectivamente.

A relação entre o estado nutricional de Zn e Cu, bem como da RCZ, e o envelhecimento saudável ainda suscita aprofundamento de estudos. Por este motivo, entender melhor essa razão, bem como os biomarcadores isolados de Zn e Cu, e o consumo alimentar destes minerais em uma população saudável e longeva poderá constituir-se uma contribuição relevante deste estudo.

Deste modo, tem-se como hipótese que o envelhecimento saudável e longo pode estar atrelado ao adequado estado nutricional de Zn e Cu, fruto de um adequado consumo de alimentos fonte desses minerais. Ademais, nesta população espera-se uma média de RCZ próxima à um e que esta esteja associada à indicadores de qualidade muscular e de composição corporal.

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1 Objetivos gerais**

Determinar a relação de biomarcadores de cobre e zinco com o consumo alimentar de cobre e zinco em pessoas idosas longevas com envelhecimento saudável.

Determinar a relação entre a razão cobre/zinco e indicadores de qualidade muscular e de composição corporal em pessoas idosas longevas com envelhecimento saudável.

#### **3.2 Objetivos específicos**

Investigar o consumo alimentar de cobre e zinco e as suas respectivas adequações em pessoas idosas longevas saudáveis.

Determinar a proporção de pessoas idosas longevas saudáveis que possuem valores adequados para os biomarcadores plasmáticos, eritrocitários e urinários de cobre e zinco.

Investigar a presença de alterações nos valores de razão cobre/zinco em pessoas idosas longevas saudáveis.

Estabelecer possíveis associações entre a razão cobre/zinco, indicadores de qualidade muscular, parâmetros de composição corporal e ingestão de cobre e zinco em pessoas idosas longevas saudáveis.

## **4. MATERIAIS E MÉTODOS**

### **4.1 Delineamento**

Trata-se de um estudo transversal observacional alinhado à um estudo de coorte aberta, prospectivo e analítico, intitulado “Perfil de minerais de idosos e relação com o envelhecimento saudável”, coordenado pela Profa. Dra. Ann Kristine Jansen, cuja amostra é de pessoas idosas longevas com envelhecimento saudável atendidos no serviço e voluntários externos. A coleta de dados se deu no período de dezembro de 2018 a maio de 2023, com interrupção de coleta entre março de 2020 e agosto de 2021 devido a Pandemia de Covid-19.

### **4.2 Local do estudo**

A coleta de dados se deu no Ambulatório de Atenção Multiprofissional ao Idoso Robusto e em Risco de Fragilização, Projeto de Extensão (SIEX 402758) coordenado pelo Prof. Dr. Rodrigo Ribeiro dos Santos e Profa. Dra. Ann Kristine Jansen, desenvolvido no Serviço de Geriatria e Gerontologia do Instituto Jenny de Andrade Faria do Hospital das Clínicas (HC) da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), que possui como objetivo principal a interdisciplinaridade e especialização do serviço assistencial no campo do envelhecimento. O Serviço de Geriatria e Gerontologia do HC/UFMG é um Centro de Referência em Atenção à Pessoa Idosa do Estado de Minas Gerais.

### **4.3 Aspectos éticos**

Esta pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG, em consonância com os termos da Resolução nº 466, de 12 de dezembro de 2012 do Conselho Nacional de Saúde, e cujo Certificado de Apresentação e Apreciação Ética (CAAE) apresenta o processo de número 85566218.0.0000.5149 (ANEXO B). O Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) foi explicado para todos os pacientes e, então, assinados por estes ou seus acompanhantes. (APÊNDICE A).

### **4.4 Financiamento**

O projeto de pesquisa “Perfil de minerais de idosos e relação com o envelhecimento saudável”, foi financiado pela Fundação de Amparo à Pesquisa de Minas Gerais (FAPEMIG), Processo APQ-00835-18.

#### 4.5 Amostra

A amostra foi obtida por conveniência com as pessoas idosas que faziam acompanhamento no ambulatório e voluntários externos alcançados por meio da divulgação da pesquisa. Estes critérios foram: idosos com idade igual ou superior a 80 anos, com envelhecimento saudável definido a partir da aplicação da Escala Visioanalógica de Fragilidade<sup>163</sup> elaborada pelo Serviço de Geriatria da UFMG (Figura 1). Esta escala abrange dez categorias clínico-funcionais que abordam o grau de vitalidade (reserva homeostática) e de fragilidade, ligados por uma linha reta, contínua e decrescente. O conceito de fragilidade abrange diferentes níveis de dependência nas AVD instrumentais e básicas, caracterizando declínio funcional.

Os centenários, ainda que em risco de fragilização, também foram elegíveis por serem reflexo de um processo de envelhecimento saudável bem-sucedido<sup>52,164</sup>. Estes indivíduos, quando em risco de fragilização, foram classificados nos estratos 4 a 5 (Quadro 2). Já os demais foram classificados entre os estratos 1 e 3, também de acordo com a Classificação Clínico-Funcional<sup>163</sup> dos Idosos.

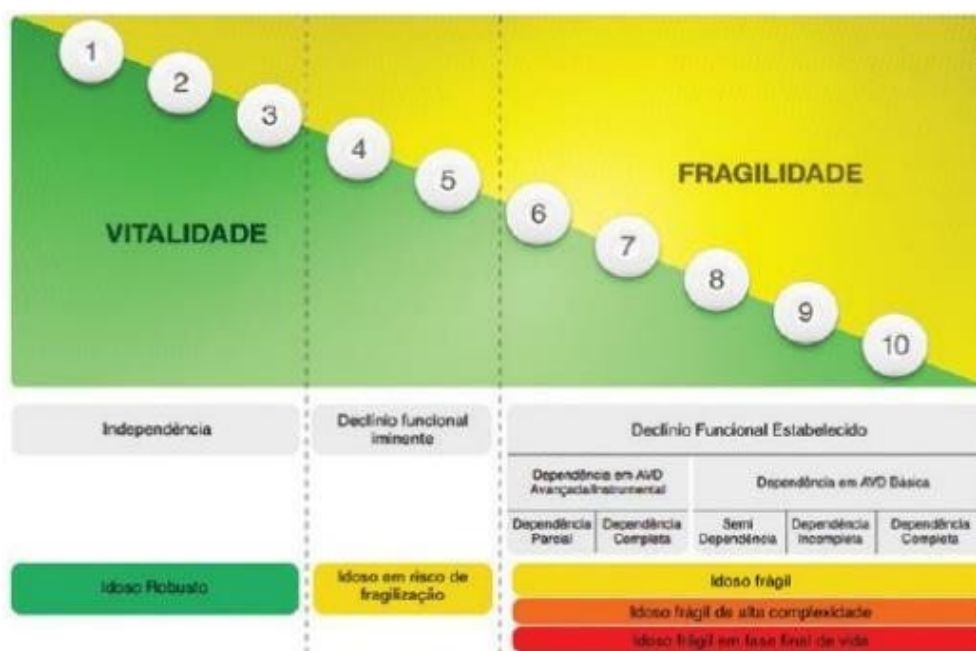


Figura 1 - Classificação Clínico-Funcional dos Idosos (Escala Visioanalógica de Fragilidade Clínico-funcional)

Fonte: Moraes et al. (2016).

Quadro 2 - Estratos funcionais de acordo com a Classificação Clínico-Funcional dos idosos <sup>163</sup>.

| Estrato | Descrição  |
|---------|--|
| 1       | Idosos que apresentam grau máximo de vitalidade, mantendo independência em todas as AVD avançadas, instrumentais e básicas, além de estarem livres de doenças e outros fatores de risco, exceto a própria idade. Eles não exibem nenhuma condição médica indicativa de resultados adversos e mantém preservados a cognição, o humor, a mobilidade e a comunicação.   |
| 2       | Idosos independentes em todas as AVD, mas que apresentam condições médicas de baixa complexidade clínica, como HAS sem complicações e/ou presença de fatores de risco como tabagismo, dislipidemia e osteopenia, entre outros.   |
| 3       | Idosos independentes em todas as AVD, mas que apresentam doenças crônico-degenerativas bem estabelecidas e de maior complexidade clínica que, em geral, aparecem isoladamente como HAS complicada, DM, história de ataques isquêmicos transitórios, acidente vascular cerebral (sem maiores consequências), doença renal crônica, insuficiência cardíaca, doença pulmonar obstrutiva crônica, osteoartrite; doença arterial coronariana ou periférica, câncer, osteoporose e fibrilação atrial, entre outros. Estão inclusos indivíduos que apresentam um ou dois critérios do “fenótipo de fragilidade” descrito por Fried et al. (2001) <sup>164</sup> . |
| 4       | Idosos que apresentam sintomas de sarcopenia, comprometimento cognitivo leve e/ou múltiplas comorbidades (polipatologia, polifarmácia ou hospitalização recente), mas que permanecem independentes em todas as AVD, incluindo as avançadas, definidas como atividades produtivas, recreativas e/ou sociais.  |
| 5       | Idosos que apresentam sintomas de sarcopenia, comprometimento cognitivo leve e/ou múltiplas comorbidades, e que também passaram a apresentar declínio funcional nas AVD avançadas. No entanto, eles permanecem independentes nas AVD instrumentais e básicas.  |

- 6 Idosos que apresentam declínio funcional parcial nas AVD instrumentais, mas que permanecem independentes nas AVD diárias.
-

- 
- 7 Idosos que apresentam declínio funcional em todas as AVD, mas que permanecem independentes nas AVD básicas.
  - 8 Idosos que apresentam declínio funcional total nas AVD instrumentais, bem como semidependência nas AVD básicas, com comprometimento de uma das funções influenciadas pela cultura e aprendizagem (tomar banho, vestir-se e/ou usar o banheiro).
  - 9 Idosos que apresentam dependência total nas AVD instrumentais, juntamente com dependência parcial nas AVD básicas com comprometimento de uma das funções vegetativas simples (movimento e/ou continência), além de necessitarem de assistência para tomar banho, vestir-se e usar o banheiro.
  - 10 Idosos que apresentam o grau máximo de fragilidade e, portanto, o maior nível de dependência funcional, necessitando de assistência até para alimentar-se.
- 

AVD: atividade de vida diária. Fonte: Moraes et al. (2016).

Os critérios de não inclusão foram: idosos classificados como frágeis segundo a Escala Visioanalógica de Fragilidade Clínico-funcional<sup>163</sup>, institucionalizados, sarcopênicos - de acordo com os critérios estabelecidos pelo segundo Consenso Europeu de Sarcopenia<sup>165</sup>. Além disso, não foram incluídos alcoolistas crônicos e aqueles que possuíam diagnóstico de DM. Idosos que não consentiram com a participação voluntária no projeto e os que se encontravam em uso dos seguintes fármacos: digitálicos, furosemida ou ácido valpróico também não foram incluídos.

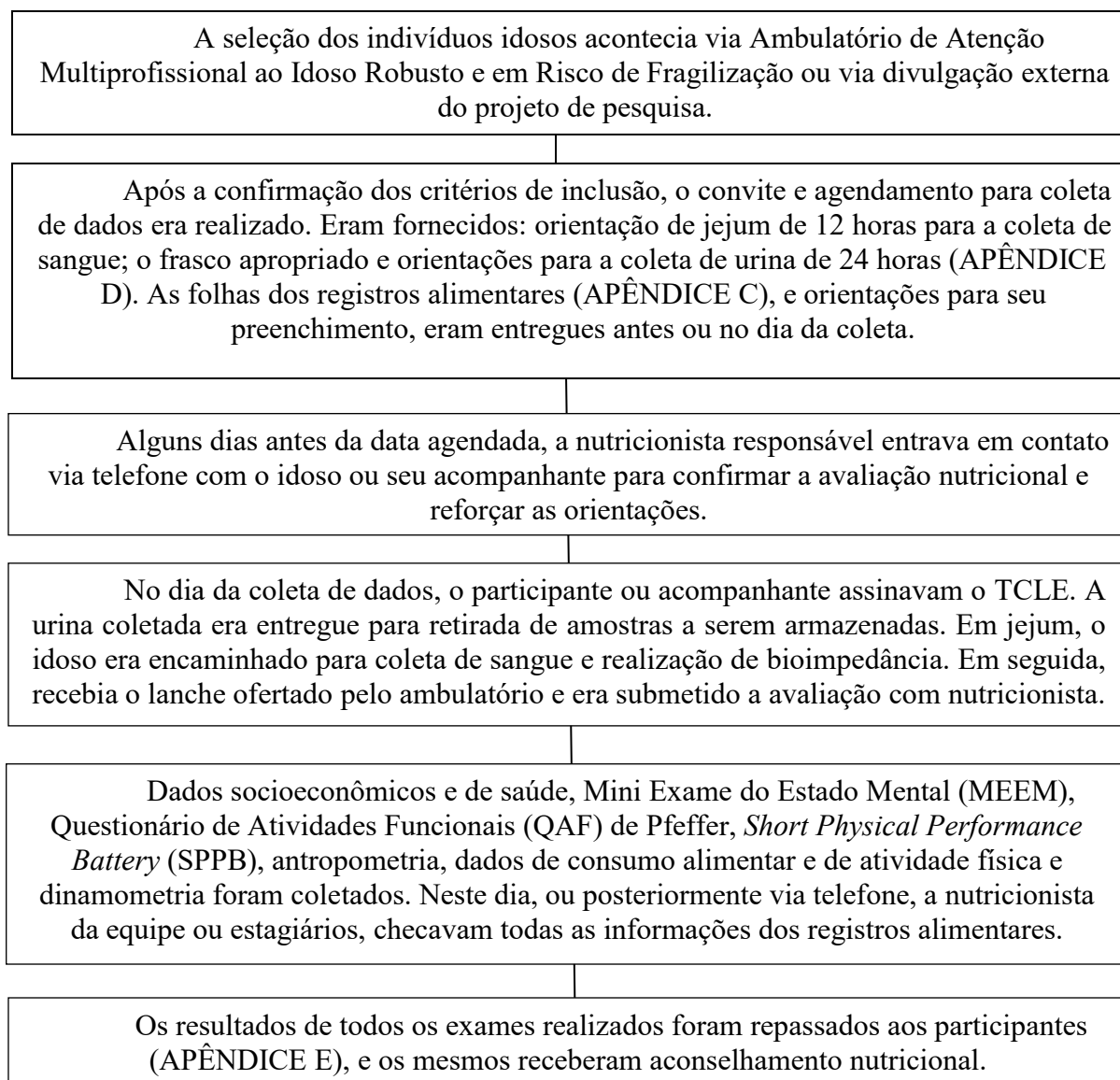
Os critérios de exclusão foram: idosos que desistiram de participar da pesquisa em qualquer momento e aqueles impossibilitados de coletar sangue para obtenção dos biomarcadores plasmáticos de Cu ou Zn.

#### 4.6 Dados coletados

O processo da coleta de dados está estruturado em forma de fluxograma (Quadro 3). Todos os dados foram coletados diretamente com a pessoa idosa e/ou seu acompanhante, pela equipe de

pesquisa, composta por pós graduandos médicos e nutricionistas além de alunos de iniciação científica do Curso de Graduação em Nutrição da UFMG.

Quadro 3 - Fluxograma do recrutamento e coleta de dados dos idosos longevos



#### 4.6.1 Dados sociodemográficos

Os dados sociodemográficos coletados foram: sexo, data de nascimento, raça autorreferida, anos de escolaridade, renda total domiciliar para cálculo de renda per capita e número de habitantes no domicílio.

#### 4.6.2 Dados de Saúde

Os participantes foram indagados acerca do número e tipo de comorbidades, uso e número de fármacos em uso, tempo diário de permanência em posição sentado, reclinado ou deitado, prática de atividade física (movimentos corporais com gasto energético, como serviços domésticos, jardinagem, locomoção, entre outros) e exercício físico (ação planejada com o intuito de manter ou alcançar determinado estado físico e de saúde, como musculação, caminhada, e outros esportes e modalidades)<sup>166</sup>. Além disso, a capacidade cognitiva dos participantes foi avaliada e classificada por meio do teste MEEM<sup>167</sup>, cuja pontuação máxima é de 30 pontos, e o ponto de corte considerado inadequado seria abaixo ou igual à 24 (passando para  $\leq 17$  pontos nos casos em que o tempo de escolaridade for menor que 4 anos)<sup>168,169</sup>. O índice de comorbidade de Charlson foi calculado a partir do site de calculadora médica MD+ Calc., disponível em: <https://www.mdcalc.com/charlson-comorbidity-index-cci>, com objetivo de prever a sobrevivência em 10 anos<sup>170,171</sup>. Neste índice, são atribuídos 4 pontos ao indivíduo com idade superior a 80 anos, e mais pontos são atribuídos de acordo com a presença de comorbidades específicas como diabetes mellitus, doença hepática, demência, doença vascular periférica, entre outras condições. Excedendo-se a pontuação correspondente à idade, é considerada alta a pontuação maior ou igual à dois. O Questionário de Atividades Funcionais (QAF) de Pfeffer também foi aplicado e o ponto de corte adotado foi de  $\geq 9$  pontos<sup>172</sup>.

#### 4.6.3 Dados antropométricos

Peso, estatura, altura de joelho (AJ), perímetro da panturrilha (PP) e da cintura (PC) foram aferidos seguindo as técnicas preconizadas pela OMS<sup>173</sup>.

O peso foi aferido em balança digital Filizola® (PL 200 LED, Filizola®, São Paulo (SP) Brasil), calibrada, com capacidade de até 150 quilogramas (kg) e divisão de 100 g, com o indivíduo em posição ereta, descalços, com ou sem meia, tendo esvaziado bolsos, e sem portar casacos ou peças extras de roupa. O estadiômetro desta balança também foi utilizado para aferição da estatura. Nesse contexto, a posição do indivíduo engloba: corpo de costas para o equipamento, pés juntos, e cabeça no plano de Frankfurt<sup>173</sup>.

Com o idoso sentado, mantendo o joelho e o tornozelo dobrados em um ângulo de 90°, a AJ (medida entre a distância da borda proximal da patela e a base do calcanhar) foi aferida com fita métrica inelástica, na perna esquerda<sup>173</sup>.

O PP também foi aferido na perna direita do idoso, com fita métrica inelástica, na maior circunferência da panturrilha<sup>173</sup>, sendo o ponto de corte de  $\leq 34$  cm para homens e de  $\leq 33$  cm para mulheres afim de predizer pouca MMA<sup>174</sup>.

O PC também foi aferido com fita inelástica, com o indivíduo de pé, abdome relaxado e os braços estendidos ao longo do corpo. A fita foi colocada logo abaixo da última costela, na linha média axilar<sup>175</sup>. Determinou-se o ponto de corte para PC aumentada de  $\geq 80,0$  cm para mulheres e  $\geq 94,0$  cm para os homens<sup>176</sup>.

Nos centenários em risco de fragilização estimou-se a estatura e o peso devido à dificuldade destes indivíduos em se manterem na posição adequada para aferição das medidas antropométricas. Para as estimativas, na ausência de equações preditivas específicas para peso e estatura em idosos com mais de 80 e 90 anos, utilizamos as fórmulas propostas por Chumlea et al. (1985; 1988)<sup>177,178</sup>:

Quadro 4 – Fórmulas propostas para estimativa de estatura e peso para idosos de 60 a 80 anos

| <b>Estimativa da estatura e de peso</b>           |   |
|---|---|
| Estimativa da estatura <sup>175</sup>             |   |
| Para homens idosos (60 a 90 anos)                 | Para mulheres idosas (60 a 90 anos)               |
| Estatura(cm) = [(2,04xAJ) – (0,04xidade)] + 64,19 | Estatura(cm) = [(1,83xAJ) – (0,24xidade)] + 84,88 |
| Estimativa do peso <sup>176</sup>                 |   |
| Para homens idosos brancos (60 a 80 anos)         | Para mulheres idosas brancas (60 a 80 anos)       |
| Peso (kg)= (AJx1,10) + (PBx3,07) – 75,81          | Peso (kg)= (AJx1,09) + (PBx2,68) – 65,51          |
| Para homens idosos negros (60 a 80 anos)          | Para mulheres idosas negras (60 a 80 anos)        |
| Peso (kg)= (AJx0,44) + (PBx2,86) – 39,21          | Peso (kg)= (AJx1,50) + (PBx2,58) – 84,22          |

cm: centímetros; AJ: altura do joelho; kg: quilogramas; PB: perímetro do braço. Fonte: Chumlea et al. (1985;1988)<sup>177,178</sup>.

O IMC foi utilizado para a classificação do estado nutricional, sendo calculado a partir da divisão do peso, em kg, pela estatura, em metros (m), elevada ao quadrado, resultando em um valor expresso em kg/m<sup>2</sup>. A classificação específica para idosos segundo a Organização Panamericana da Saúde (2002)<sup>179</sup> está descrita no Quadro 2.

Quadro 5 - Classificação de idosos de acordo com o IMC.

| <b>Classificação</b> | <b>IMC (kg/m<sup>2</sup>)</b> |
|----------------------|-------------------------------|
| Baixo peso           | < 23,0                        |
| Eutrófico            | > 23,0 e < 28                 |
| Excesso de peso      | > 28,0 e < 30                 |
| Obesidade            | ≥ 30,0                        |

IMC: índice de massa corporal; kg: quilos; m: metros. Fonte: OPAS (2002)<sup>179</sup>.

#### 4.6.4 Bioimpedância

Para a realização da bioimpedância elétrica utilizou-se o aparelho da marca Biodynamics modelo 310 (Byodynamics Corporation®, Estados Unidos), equipamento tetrapolar e portátil que emite uma corrente elétrica de 800 microampères e 50 quilohertz de intensidade e frequência, respectivamente.

Os voluntários foram orientados a comparecer ao ambulatório em jejum de oito horas, tendo evitado a realização de exercícios físicos extenuantes 12 horas antes do teste e retirando objetos metálicos do local de colocação dos eletrodos no momento da realização do exame.

Após a introdução dos dados de idade, sexo, peso e estatura no dispositivo, o participante deitava-se em decúbito dorsal sob uma maca, superfície não condutora. Nos braços e pernas afastados e abduzidos a 45°, e livres de adornos, calçados e meias, os eletrodos foram fixados em pontos anatômicos específicos. Na superfície dorsal do pé direito, o eletrodo distal foi colocado na base do dedo médio e o eletrodo proximal um pouco acima da linha da articulação do tornozelo, entre os maléolos medial e lateral. Na superfície dorsal da mão direita, aberta e apoiada na superfície, o eletrodo distal foi posicionado na base do dedo médio e o eletrodo proximal um pouco acima da linha da articulação do punho, coincidindo com o processo estilóide. Por fim, o cabo sensor foi conectado aos eletrodos, sendo os clips pretos colocados nos eletrodos distais e os clips vermelhos nos eletrodos proximais (Figura 2). Ressalta-se que a bioimpedância não foi realizada naqueles pacientes portadores de dispositivos metálicos, como marcapasso, pinos ou placas metálicas. Estes protocolos estão descritos no manual do fabricante (Biodynamics Corporation®)<sup>180</sup> além de estarem entre as recomendações da ESPEN<sup>181</sup>.



Figura 2 - Pontos anatômicos de colocação dos eletrodos para realização de bioimpedância  
 Fonte: Biodynamics Corporation. BIA 310 clinician tools: Quick start guide. 1998

Foram utilizados os dados de resistência e reactância fornecidos pelo equipamento que possui precisão de correlação  $R=0.98$ , com pesagem hidrostática e precisão de  $\pm 1\%$  na leitura de resistência. A partir dos dados de resistência e reactância, calculou-se o ângulo de fase (AF) com base na seguinte equação<sup>182</sup>:

Ângulo de fase =  $\text{reatância/resistência} \times \text{arco-tangente } 180^\circ/\pi$ , isto é:

$$AF = (Xc/R) \times (180/3,1415) = (Xc/R) \times 57,3$$

A MMA foi calculada a partir da fórmula proposta por Peniche, Giorguli & Aleman-Mateo (2015)<sup>183</sup> descrita abaixo:

$$MMA = - 0,05376 + [0,2394 * (\text{altura}^2/\text{rectância})] + (2,708 * \text{sexo}) + (0,065 * \text{peso})$$

#### 4.6.5 Dados de força e desempenho físico: avaliação da qualidade muscular

A qualidade muscular foi examinada por meio da força muscular e do desempenho físico. A primeira foi avaliada por meio da força máxima de preensão palmar (Fmax) aferida utilizando-se um dinamômetro manual calibrado, da marca Jamar ® (BL5001, Lafayette, Indiana, EUA). Foram realizadas três medidas padronizadas da Fmax da mão direita e, posteriormente, mão esquerda, com os indivíduos assentados em cadeira com encosto e braços fixos, com a coluna reta e encostada na cadeira, os pés apoiados no chão, ombros relaxados ao longo do corpo e braços e cotovelos flexionados a  $90^\circ$ , sobre o braço da cadeira. O punho flexionado entre  $0$  e  $30^\circ$ , e a mão sem apoio.

Para tal, o avaliador segura a base do dinamômetro na medição. Foi requisitado aos participantes que comprimissem a alça do dinamômetro com a maior força possível e durante o teste, o avaliador estimulou a realização de força máxima sobre o aparelho (Figura 3). Três medidas de cada lado foram anotadas e utilizada a medida de maior valor<sup>184</sup>.



Figura 3 - Aferição da máxima força de preensão palmar

Fonte: Acervo do autor.

Figura 3 – Aferição da máxima força de preensão palmar

As medidas de Fmax foram avaliadas de acordo com os pontos de corte estabelecidos pelo Consenso Europeu de Sarcopenia, sendo considerada força adequada quando  $> 27$  kg para homens e  $> 16$  kg para mulheres<sup>165</sup>.

Já o desempenho físico foi avaliado pelo teste *Short Physical Performance Battery* (SPPB), um instrumento desenvolvido com o apoio do “*National Institute on Aging for the Established Populations for Epidemiologic Studies of the Elderly*” nos EUA, validado no Brasil<sup>185</sup>, eficaz para avaliar o desempenho físico dos membros inferiores (MMII) da população idosa, que inclui a avaliação do equilíbrio estático, da velocidade de marcha (VM) e da força muscular dos MMII (Figura 4).

A avaliação de equilíbrio foi realizada solicitando ao idoso permanecer por 10 segundos em três posições distintas, ambas de pé e sem segurar em objeto de suporte: *side-by-side* (com os pés bem juntos), *semi-tandem stand* (com um pé um pouco mais à frente do outro, sendo que o calcanhar

de um pé encosta no dedão do outro pé) e *tandem stand* (um pé a frente do outro). Para o teste de VM, solicitou-se ao idoso que percorresse, iniciando em uma distância de zona de desaceleração, quatro metros demarcados no chão medindo-se o tempo do percurso em segundos. Já a avaliação da força dos MMII foi realizada por meio do teste de levantar e sentar na cadeira por cinco vezes consecutivas sem o auxílio dos membros superiores<sup>186</sup>.

Quadro 6 - Descrição da pontuação nos 3 testes do SPPB.

| <b>Teste SBBP</b>   | <b>Escore</b> |
|---|---------------|
| <b>Avaliação do equilíbrio</b>                                    |               |
| Incapaz de manter-se na posição lado a lado por 10 segundos       | 0             |
| Incapaz de se manter em semitandem por 10 segundos                | 1             |
| Incapaz de se manter em tandem por mais de 3 segundos             | 2             |
| Mantém-se em tandem de 3 a 9 segundos                             | 3             |
| Mantém-se em tandem por 10 segundos                               | 4             |
| <b>Velocidade de marcha</b>                                       |               |
| Incapaz de completar o teste                                      | 0             |
| VM $\leq$ 0,46 m/s ou tempo maior que 8,70 segundos               | 1             |
| VM entre 0,47 a 0,64 m/s ou tempo entre 6,21 a 8,70 segundos      | 2             |
| VM entre 0,65 a 0,82 m/s ou tempo entre 4,82 a 6,20 segundos      | 3             |
| VM maior que 0,83 m/s ou tempo menor que 4,82 segundos            | 4             |
| <b>Avaliação de força de membros inferiores – Senta e levanta</b> |               |
| Incapaz de completar o teste                                      | 0             |
| Tempo maior que 16,7 segundos                                     | 1             |
| Tempo entre 13,7 a 16,6 segundos                                  | 2             |
| Tempo entre 11,2 a 13,6 segundos                                  | 3             |
| Tempo menor que 11,1 segundos                                     | 4             |

Fonte: Guralnik et al. (2000)<sup>186</sup>.

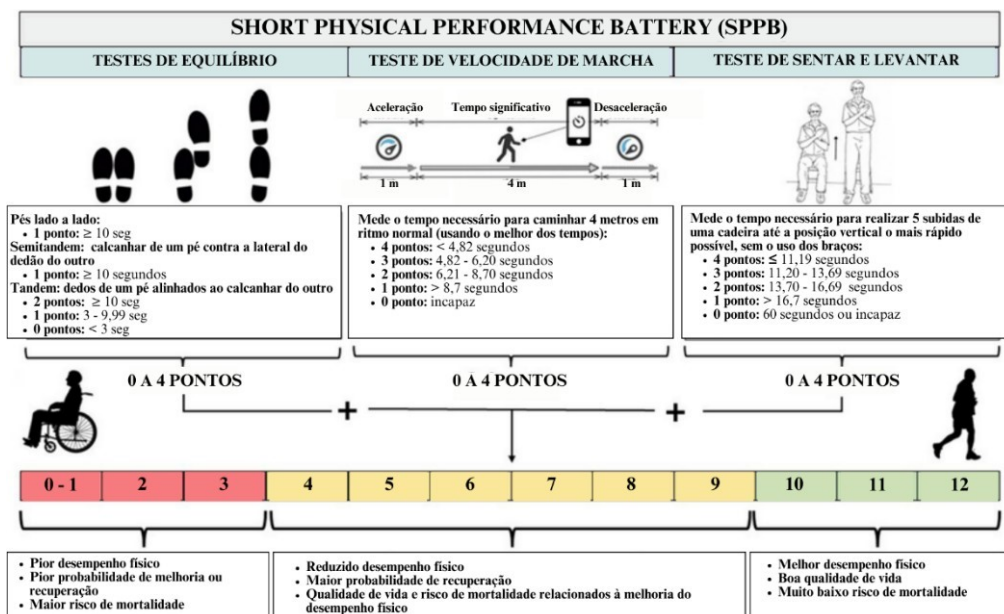


Figura 4 - Pontuação nos testes do SPPB

Fonte: Tonet E, Raisi A, Zagnoni S, Chiaranda G, Pavasini R, Vitali F, et al. Multi-domain lifestyle intervention in older adults after myocardial infarction: rationale and design of the PipELINE randomized clinical trial. *Aging Clin Exp Res* 2023; 35(5):1107-15.

O escore total da SPPB foi obtido pela soma das pontuações de cada teste, variando de 0 (zero) para o pior desempenho a 12 (doze) pontos para o melhor desempenho. Considerou-se incapacidade ou performance muito ruim quando o idoso apresentou escore entre 0 e 3 pontos; baixa performance se o escore estivesse entre 4 e 6 pontos; moderada performance com escores entre 7 e 9 e; bom desempenho se escore igual a 10, 11 ou 12 pontos<sup>187-189</sup>.

#### 4.6.6 Dados de consumo alimentar

A avaliação do consumo alimentar foi realizada por registro alimentar de 3 dias não consecutivos, incluindo um dia do final de semana<sup>190,191</sup>. O formulário de registro (APÊNDICE C) foi entregue ao idoso e/ou seu acompanhante por um membro da equipe de pesquisadores antes da coleta de dados. Orientações em relação ao preenchimento, de maneira detalhada, sobre a ingestão dos alimentos consumidos com suas respectivas quantidades, seja em medida caseira, unidade, volume ou gramatura e o horário de cada refeição foram realizadas. Destaca-se também que aqueles alimentos consumidos de forma esporádica em horários inespecíficos, comumente conhecidos como beliscos, foram anotados no formulário. Informações adicionais relativas a consumo temporal

(equivalente ao consumo familiar em dias, semanas ou meses) de óleo, sal e água, também foram coletadas para posteriormente obtermos o per capita destes ingredientes.

No momento da avaliação nutricional, ou posteriormente via telefone, a nutricionista da equipe ou os alunos de iniciação científica, checavam todas as informações do registro alimentar e coletavam informações sobre uso de suplementos alimentares, para serem computados aos cálculos de ingestão calórica, proteica e de minerais.

A composição de calorias, fibras, proteínas e minerais do dia alimentar foi calculada segundo metodologia proposta pelo IBGE para tratamento dos dados de consumo alimentar da POF 2008/2009<sup>192</sup>, por meio do programa “Brasil Nutri” 2ª edição, considerando-se a média dos dias do registro alimentar. A ingestão diária energética e proteica foi adequada pelo peso corporal em kg dos participantes.

A probabilidade de adequação do consumo de Zn e de Cu foi obtida pela equação<sup>193</sup>:

$$Z = \frac{\text{Média da ingestão} - \text{EAR}}{[\text{Vinter} + (\text{Vintra}/n)]^{1/2}}$$

Onde:

Z= Escore-Z

EAR= necessidade média estimada (IOM, 2001)<sup>82</sup>

Vinter: variância interpessoal<sup>193</sup>

Vintra: variância intrapessoal<sup>193</sup>

n: número de dias de registro alimentar

Frente à ausência de dados nacionais, foram utilizados os valores de variâncias inter e intrapessoal do consumo proposto pelo *Institute of Medicine* (2006)<sup>193</sup>, determinado a partir de dados populacionais dos EUA. É importante salientar que esses não apresentam distinção entre adultos e idosos<sup>194</sup>. O resultado é um escore-Z, que deve ser convertido na tabela de valores Z (ANEXO C) por meio da qual determina-se a probabilidade de adequação dietética<sup>190</sup>.

#### 4.6.7 Coleta de sangue e separação dos componentes sanguíneos

Foram avaliados os biomarcadores plasmáticos e eritrocitários de Cu e Zn. A coleta de sangue

foi realizada em laboratório próprio para coleta de material biológico, localizado no primeiro andar do Instituto Jenny de Andrade Faria, por profissional técnico em enfermagem no período da manhã, entre 8 e 10 horas, estando os participantes em jejum de cerca de 12 horas.

Foram coletados 11 ml de sangue venoso, os quais foram distribuídos em tubos a vácuo previamente desmineralizados e adicionados de citrato de sódio. O plasma foi separado do sangue total por centrifugação (CIENITEC® 4K15, São Paulo, Brasil) a 1831 x a força centrífuga (G) durante 15 minutos a 4 °C. Prontamente, o plasma foi extraído e acondicionado em microtubos de polipropileno. Estes procedimentos foram realizados no Laboratório de Nutrição Experimental da Escola de Enfermagem da UFMG. Para separação dos eritrócitos e subsequente determinação dos minerais, foram utilizados os métodos propostos por Whitehouse et al. (1982)<sup>195</sup>.

A massa eritrocitária foi lavada com 10 ml de solução salina isotônica (NaCl a 0,9%), sendo cuidadosamente homogeneizada por inversão e, posteriormente, centrifugada (SIGMA® 4K15) a 2493 x G por 10 minutos. Este procedimento foi repetido três vezes para remover interferentes dos eritrócitos (plaquetas e leucócitos). Após a última centrifugação, a solução salina foi aspirada e descartada, e a massa eritrocitária foi extraída e transferida para tubos de polipropileno desmineralizados, que foram mantidos à temperatura de -20°C para posterior análise<sup>195</sup>. Em seguida, o material acondicionado em caixa térmica foi transportado ao laboratório para análise dos minerais.

#### 4.6.8 Coleta de urina de 24 horas

As amostras foram coletadas para a determinação de Cu e Zn urinários como marcadores de excreção. Para tal, uma amostra de urina de 24 horas foi coletada em frasco plástico âmbar ou transparente previamente desmineralizado com demarcações em milímetros, cujo volume total é de 2,5L. Todos os participantes foram orientados verbalmente e por escrito (APÊNDICE D) a iniciar a coleta da urina ao acordar, esvaziando a bexiga, desprezando a primeira urina do dia e armazenando todas as posteriores no frasco (armazenado na geladeira entre as coletas), até a primeira urina do dia seguinte, inclusive nos intervalos noturnos. Após a finalização do processo, os participantes foram instruídos a entregar o frasco no Serviço de Geriatria do Instituto Jenny de Andrade Faria, para um membro da equipe.

O volume urinário total foi anotado de acordo com a demarcação própria do frasco. Procedendo a análise do material, após homogeneização do conteúdo total, foi retirada uma alíquota

de 44 ml de urina, transferida para microtubos (4 ml) devidamente desmineralizados e conservado em freezer a  $-20^{\circ}\text{C}$  para análise de Zn e Cu. A urina foi acondicionada em caixa térmica e encaminhada ao laboratório para análise dos minerais.

#### 4.7 Controle de contaminação e preparo dos reagentes

A fim de garantir o controle de contaminação por minerais, toda a vidraria e material de polipropileno utilizado para as análises foram desmineralizados antes do uso, por meio do banho em solução de ácido nítrico a 30%, durante um período mínimo de 12 horas sendo, posteriormente, enxaguados em água deionizada, no mínimo 10 vezes, secos em estufa e mantidos embalados em depósitos fechados, até o momento da utilização<sup>196</sup>. Todos os reagentes utilizados foram de grau de pureza analítica (P.A) e todas as soluções aquosas e as diluições foram preparadas com água ultrapura ( $18\text{ M}\Omega\cdot\text{cm}$ -Megohms1), obtida por meio de um sistema Milli-Q (Millipore®, EUA).

#### 4.8 Análise dos Minerais

A análise elementar de Cu e Zn foi realizada em um espectrômetro de plasma indutivamente acoplado - Espectrometria de Emissão Óptica com uma configuração de vista axial e um nebulizador V-Groove (720 ICP-OES- Espectrômetro de emissão óptica com plasma acoplado indutivamente, Varian Inc., Califórnia, EUA) no laboratório de Espectroscopia de Emissão Óptica - Instrumentação Analítica, segundo metodologia proposta pela Association of Analytical Chemists (2012)<sup>197</sup>.

Os limites de detecção tanto para o Cu quanto para o Zn foram medidos a partir da equação  $3 \times \text{DP}$  de 10 medições do branco, dividido pela declividade da curva de calibração. Soluções estoque monoelementais de Zn e Cu  $1000\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  (Titrisol e Certipur - Merck, Germany), foram utilizados na preparação de soluções de referência para a curva de calibração e otimização das condições analíticas. Todas as soluções aquosas e as diluições foram preparadas com água ultrapura ( $18\text{ M}\Omega\cdot\text{cm}^{-1}$ ), obtida por meio de um sistema Milli-Q (Millipore, Bedford, Massachusetts). Duas linhas de emissão para cada elemento foram testadas antes da seleção. Finalmente, o Zn foi lido num comprimento de onda de  $213,856\text{ nm}$  e o Cu em comprimento de onda de  $324,760\text{ nm}$ . A escolha das linhas espectrais de análise foi baseada tanto na sua sensibilidade quanto na interferência espectral. As amostras foram medidas em triplicata. Amostras de material de referência certificado, Seronorm TM Oligoelement Serum L1 e L-2 (Billingstad, Noruega) foram determinadas para validar as medições analíticas em I Espectrometria de emissão óptica com plasma (ICP-OES). Todas as

amostras foram coletadas em tubos desmineralizados com uso de anticoagulante citrato de sódio.

A determinação das concentrações sanguíneas e urinária do Cu e do Zn foram realizadas de acordo com metodologia proposta por Harrington et al. (2014)<sup>198</sup>, com adaptações, em espectrômetro de emissão óptica com plasma acoplado indutivamente (720 ICP/OES, Varian Inc., EUA).

As amostras de plasma foram diluídas em 1:20 volume/volume (v/v) da seguinte forma: 3,0% massa/volume 1-butanol, 0,1% (v/v) TAMA (surfactante de alta pureza), 0,05% (v/v) HNO<sub>3</sub>. As amostras de eritrócitos/papa de hemácias foram diluídas em 1:60 volume/volume (v/v) da seguinte forma: 3,0% massa/volume 1-butanol, 0,2% v/v TAMA (surfactante de alta pureza), 0,1% v/v HNO<sub>3</sub> (ácido nítrico). Para as amostras de urina, foi utilizado um sistema assistido de micro-ondas Mars 6 (CEM®, EUA) com digestão ácida com HNO<sub>3</sub> a 65% (1 ml de HNO<sub>3</sub>: 9 ml de água deionizada). Após a digestão, as soluções foram diluídas 1:40 v/v em água ultrapura e colocadas em frascos volumétricos de politetrafluoretileno. As amostras foram medidas em triplicata.

Quadro 7 - Valores de referência dos biomarcadores de Zn e Cu

| <b>Biomarcadores</b> | <b>Valor de referência</b> | <b>Referência bibliográfica</b>                         |
|----------------------|----------------------------|---|
| <b>Zinco</b>         |                            |   |
| Plasmático           | 75 a 110 µg/dL             | Gibson (2005) <sup>85</sup>                             |
| Eritrocitário        | 40 a 44 µg/gHb             | Vitoux, Arnaud, Chappuis (1999) <sup>199</sup>          |
| Urinário             | 300 a 600 ug Zn/24 h       | Gibson (2005) <sup>85</sup>                             |
| <b>Cobre</b>         |                            |   |
| Plasmático           | 70 a 155 ug/dL             | Gromadzka, Grycan, Przybyłkowski, (2023) <sup>139</sup> |
| Eritrocitário        | 30,5-132,2 ug/dL           | Vitoux; Arnaud, Chappuis (1999) <sup>199</sup>          |
| Urinário             | < 100 ug Cu/24h            | Gow et al. (2000) <sup>200</sup>                        |

dl: decilitro; gHb: grama de hemoglobina; h: hora; L: litro; µmol: micromol; µg: micrograma

A RCZ foi obtida através da divisão entre o valor de Cu plasmático em micrograma por decilitro e o valor de Zn plasmático expresso na mesma unidade, sendo considerada adequada quanto mais próxima de 1.

#### 4.9 Análise estatística

Inicialmente, as variáveis quantitativas foram analisadas quanto à normalidade de sua distribuição por meio do teste de Kolmogorov-Smirnov. As de distribuição normal foram descritas em médias e desvio-padrão, as de distribuição não-normal em medianas, e intervalo interquartil (IQQ) considerando-se os percentis 25 e 75. As variáveis categóricas foram descritas em números absolutos e percentuais.

A amostra foi dicotomizada por sexo para as análises com as variáveis de qualidade muscular, consumo alimentar e biomarcadores de minerais. Posteriormente, avaliou-se a amostra dicotomizada quanto ao quartil de RCZ, agrupando-se os três primeiros e separando o quartil 4 ( $P75 > 1,63$ ), para análise de variáveis de composição corporal como as antropométricas e de bioimpedância, de força e desempenho físico como a força de preensão palmar e a pontuação do SPPB e de consumo alimentar como a ingestão de calorias e proteínas por quilo e o consumo e adequação de Zn e Cu.

A comparação de médias foi realizada por meio do Teste t de Student para amostras independentes ou Teste Mann-Whitney para variáveis numéricas com distribuição normal e não normal, respectivamente.

As variáveis categóricas foram comparadas pelo teste de Quiquadrado de Pearson ou Exato de Fisher. Correlações de Pearson ou Spearman foram realizadas para correlacionar as variáveis de qualidade muscular, consumo e composição corporal com os biomarcadores de minerais e a RCZ. Os dados foram analisados através do programa Statistical Package for the Social Sciences (SPSS versão 19.0) sendo considerados significativos valores de percentil ( $p < 0,05$ ).

A análise multivariada foi efetuada a partir de modelos de regressão de Poisson com variância robusta tendo como variável dependente a RCZ classificada em quartis e dicotomizada nos três primeiros e último quartil e como variáveis explicativas as variáveis previsoras que obtiveram valor p inferior a 20%, ( $p < 0,20$ ) na análise bivariada. Estas variáveis foram inseridas pelo método backward no modelo multivariado de Regressão Poisson com variância robusta sendo que aquelas com menor significância (maior valor p) foram retiradas uma a uma do modelo. O procedimento foi repetido até que todas as variáveis presentes no modelo possuíssem significância estatística ( $p < 0,05$ ). Dois modelos foram gerados, o primeiro sem ajuste e o segundo ajustado por sexo e idade.

Utilizou-se para verificação do ajuste do modelo final, o teste de Hosmer Lemeshow. A razão de prevalência (RP) com intervalo de confiança de 95% (IC 95) foi utilizada como medida de efeito.

Os dados obtidos foram analisados com auxílio do software Stata versão 12.0. Para todas as análises, foi adotado o valor de significância de 5%.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. World Health Organization. Ageing and health [homepage na Internet]. 2022. [acesso em 04 jan 2023]. Disponível em: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/ageing-and-health>
2. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Projeção da população do Brasil e das Unidades da Federação: IBGE [homepage na Internet]. 2017. [acesso em 25 jan. 2023]. Disponível em: [https://www.ibge.gov.br/apps/populacao/projecao/index.html?utm\\_source=portal&utm\\_medium=popclock](https://www.ibge.gov.br/apps/populacao/projecao/index.html?utm_source=portal&utm_medium=popclock).
3. Ramos LR. Fatores determinantes do envelhecimento saudável em idosos residentes em centro urbano: Projeto Epidoso, São Paulo. *Cad Saude Publica* 2003; 19(3):793-7.
4. Canêdo AC, Lopes CS, Lourenço RA. Prevalence of and factors associated with successful aging in Brazilian older adults: frailty in Brazilian older people Study (FIBRA RJ). *Geriatr Gerontol Int* 2018; 18(8):1280-5.
5. Artaza-Artabe I, Sáez-López P, Sánchez-Hernández N, Fernández-Gutierrez N, Malafarina V. The relationship between nutrition and frailty: Effects of protein intake, nutritional supplementation, vitamin D and exercise on muscle metabolism in the elderly. A systematic review. *Maturitas* 2016; 93:89-99.
6. da Rosa Camargo L, Doneda D, Oliveira VR. Whey protein ingestion in elderly diet and the association with physical, performance and clinical outcomes. *Exp Gerontol* 2020 ;137: 110936.
7. Wu PY, Huang KS, Chen KM, Chou CP, Tu YK. Exercise, nutrition, and combined exercise and nutrition in older adults with sarcopenia: a systematic review and network meta-analysis. *Maturitas* 2021; 145: 38-48.
8. Santiago EC, Roriz AK, Ramos LB, Ferreira AJ, Oliveira CC, Gomes-Neto M. Comparison of calorie and nutrient intake among elderly with and without sarcopenia: A systematic review and meta-analysis. *Nutr Rev* 2021; 79(12): 1338-52.
9. Kojima G, Avgerinou C, Iliffe S, Walters K. Adherence to Mediterranean diet reduces incident frailty risk: systematic review and meta-analysis. *J Am Geriatr Soc* 2018; 66(4): 783-788.
10. Wang Y, Hao Q, Su L, Liu Y, Liu S, Dong B. Adherence to the Mediterranean diet and the risk of frailty in old people: a systematic review and meta-analysis. *J Nutr Health Aging* 2018; 22: 613-618.
11. Di Giosia P, Stamerra CA, Giorgini P, Jamialahamdi T, Butler AE, Sahebkar A. The role of

- nutrition in inflammaging. *Ageing Res Rev* 2022;101596.
12. Wawrzyniak-Gramacka E, Hertmanowska N, Tylutka A, Morawin B, Wacka E, Gutowicz M, Zembron-Lacny A. The association of anti-inflammatory diet ingredients and lifestyle exercise with inflammaging. *Nutrients*, 2021; 13(11): 3696.
  13. Szic KS, Declerck K, Vidaković M, Vanden Berghe W. From inflammaging to healthy aging by dietary lifestyle choices: is epigenetics the key to personalized nutrition? *Clin Epigenetics*, 2015; 7:1-18.
  14. Ozkur M, Benlier N, Takan I, Vasileiou C, Georgakilas AG, Pavlopoulou A, et al. Ginger for healthy ageing: A systematic review on current evidence of its antioxidant, anti-inflammatory, and anticancer properties. *Oxid Med Cell Longev* 2022; 4748447.
  15. Klimova B, Novotny M, Valis M. The impact of nutrition and intestinal microbiome on elderly depression—a systematic review. *Nutrients* 2020; 12(3):710.
  16. Bae JH, Kim G. Systematic review and meta-analysis of omega-3-fatty acids in elderly patients with depression. *Nutr Res* 2018; 50:1-9.
  17. Morales-Ivorra I, Romera-Baures M, Roman-Viñas B, Serra-Majem L. Osteoarthritis and the Mediterranean diet: a systematic review. *Nutrients* 2018; 10(8):1030.
  18. Malmir H, Saneei P, Larijani B, Esmailzadeh A. Adherence to Mediterranean diet in relation to bone mineral density and risk of fracture: a systematic review and meta-analysis of observational studies. *Eur J Nutr* 2018; 57: 2147-60.
  19. McKeivith B. Diet and healthy ageing. *J Br Menopause Soc* 2005; 11(4):121-5.
  20. Bruins MJ, Van Dael P, Eggersdorfer M. The role of nutrients in reducing the risk for noncommunicable diseases during aging. *Nutrients* 2019; 11(1):85.
  21. Tyrovolas S, Panagiotakos DB. The role of Mediterranean type of diet on the development of cancer and cardiovascular disease, in the elderly: a systematic review. *Maturitas* 2010; 65(2):122-30.
  22. Feng Q, Fan S, Wu Y, Zhou D, Zhao R, Liu M, Song Y. Adherence to the dietary approaches to stop hypertension diet and risk of stroke: A meta-analysis of prospective studies. *Medicine* 2018; 97(38).
  23. Liu YH, Jensen GL, Na M, Mitchell DC, Wood GC, Still CD, Gao X. Diet quality and risk of Parkinson's disease: a prospective study and meta-analysis. *J Parkinson's Dis*, 2021; 11(1):337-47.

24. Nissensohn M, Román-Viñas B, Sánchez-Villegas A, Piscopo S, Serra-Majem L. The effect of the Mediterranean diet on hypertension: a systematic review and meta-analysis. *J Nutr Educ Behav* 2016; 48(1):42-53.
25. Liu YH, Gao X, Na M, Kris-Etherton PM, Mitchell DC, Jensen GL. Dietary pattern, diet quality, and dementia: a systematic review and meta-analysis of prospective cohort studies. *J Alzheimer's Dis* 2020; 78(1):151-68.
26. Proietti AR, del Balzo V, Dernini S, Donini LM, Cannella C. Mediterranean diet and prevention of non-communicable diseases: scientific evidences. *Ann Ig* 2009; 21(3):197-210.
27. Bonaccio M, Di Castelnuovo A, Costanzo S, Gialluisi A, Persichillo M, Cerletti C, et al. Mediterranean diet and mortality in the elderly: a prospective cohort study and a meta-analysis. *Brit J Nutr* 2018; 120(8):841-54.
28. Trichopoulou A. Traditional Mediterranean diet and longevity in the elderly: a review. *Public Health Nutr* 2004; 7(7):943-47.
29. Soltani S, Jayedi A, Shab-Bidar S, Becerra-Tomás N, Salas-Salvadó J. Adherence to the Mediterranean diet in relation to all-cause mortality: a systematic review and dose-response meta-analysis of prospective cohort studies. *Advances in Nutrition* 2019; 10(6):1029-39.
30. Méplan, C. Trace elements and ageing, a genomic perspective using selenium as an example. *J Trace Elem Med Biol* 2011; 25: 11-16.
31. Van Dronkelaar C, van Velzen A, Abdelrazek M, van der Steen A, Weijs PJM, Tieland M. Minerals and Sarcopenia; The Role of Calcium, Iron, Magnesium, Phosphorus, Potassium, Selenium, Sodium, and Zinc on Muscle Mass, Muscle Strength, and Physical Performance in Older Adults: A Systematic Review. *J Am Med Dir Assoc* 2018;19(1):6-11.
32. Zhu Q, Yao Y, Ning CX, Zhao YL. Trace element levels in the elders over 80 from the Hainan province of China. *J Nutr Health Aging* 2019; 23: 883-89.
33. Mocchegiani E, Malavolta M, Marcellini F, Pawelec G. Zinc, oxidative stress, genetic background and immunosenescence: implications for healthy ageing. *Immun Ageing* 2006; 3:1-8.
34. Uauy R, Olivares M, González M. Essentiality of copper in humans. *Am J Clin Nutr* 1998; 67:952-9.
35. Mravunac M, Szymlek-Gay EA, Daly RM, Roberts BR, Formica M, Gianoudis J, et al. Greater circulating copper concentrations and copper/zinc ratios are associated with lower psychological

- distress, but not cognitive performance, in a sample of Australian older adults. *Nutrients* 2019; 11(10):2503.
36. Malavolta M, Piacenza F, Basso A, Giacconi R, Costarelli L, Mocchegiani E. Serum copper to zinc ratio: Relationship with aging and health status. *Mech Ageing Dev* 2015; 151:93-100.
37. Mezzetti A, Pierdomenico SD, Costantini F, Romano F, De Cesare D, Cucurullo F, et al. Copper/zinc ratio and systemic oxidant load: effect of aging and aging-related degenerative diseases. *Free Radic Biol Med* 1998; 25(6):676-81.
38. UNFPA - Population and Family Study Center. *Population ageing: Challenges for policies and programmes in developed and developing countries*. New York and Brussels: UNFPA and Population and Family Study Center; 1999.
39. United Nations Organization. Cúpula da ONU discute envelhecimento populacional e desenvolvimento sustentável [Internet]. 2017 [acesso em 25 jan 2023]. Disponível em: <https://brasil.un.org/pt-br/76184-c%C3%BApula-da-onu-discute-envelhecimento-populacional-e-desenvolvimento-sustent%C3%A1vel>
40. The United Nations. *World Population Ageing 2020: Highlights*. [homepage na Internet]. 2020 [acesso em 20 jan 2023] Disponível em: [https://www.un.org/development/desa/pd/sites/www.un.org.development.desa.pd/files/undesap\\_2020\\_world\\_population\\_ageing\\_highlights.pdf](https://www.un.org/development/desa/pd/sites/www.un.org.development.desa.pd/files/undesap_2020_world_population_ageing_highlights.pdf)
41. Pablos-Mendez A, Radloff SR, Khajavi K, Dunst SA. The demographic stretch of the Arc of life: social and cultural changes that follow the demographic transition. *Glob Health Sci Pract* 2015; 3(3):341-51.
42. da Silva Simões CC. *Relações entre as alterações históricas na dinâmica demográfica brasileira e os impactos decorrentes do processo de envelhecimento da população*. IBGE, Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. [Internet]. 2016. [acesso em 01 fev 2023]. Disponível em: <https://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/livros/liv98579.pdf>
43. United Nations Department of Economic and Social Affairs, Population Division. *World population prospects*. [Internet]. 2022. [acesso em 01 fev 2023]. Disponível em: <https://population.un.org/wpp/Download/Standard/Population/>
44. Barreto ML. Esboços para um cenário das condições de saúde da população brasileira 2022/2030. Fundação Oswaldo Cruz. *A saúde no Brasil em 2030 - prospecção estratégica do sistema de saúde brasileiro: população e perfil sanitário*, 2013; 97-116.

45. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Análise de Situação de Saúde. Plano de ações estratégicas para o enfrentamento das doenças crônicas não transmissíveis (DCNT) no Brasil 2011-2022. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Análise de Situação de Saúde. 2011. 160 p.
46. Brasil. Ministério da Saúde. Lei nº 10,741 de 1º de outubro de 2003 que dispõe sobre o Estatuto da Pessoa Idosa. [portaria na Internet]. 2003 [acesso em 28 jan 2023]. Disponível em: [https://www.planalto.gov.br/ccivil\\_03/leis/2003/110.741.htm](https://www.planalto.gov.br/ccivil_03/leis/2003/110.741.htm).
47. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Coordenação de Pesquisas por Amostras de Domicílios. Pesquisa Nacional por Amostra de Domicílios Contínua: Características Gerais dos Moradores 2020-2021. [Internet]. 2022. [acesso em 14 de jan 2023]. Disponível em: [https://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/livros/liv101957\\_informativo.pdf](https://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/livros/liv101957_informativo.pdf)
48. World Health Organization. Guidance on person-centred assessment and pathways in primary care. Published online, 2019.
49. Global Burden of Disease Collaborative Network. Global Burden of Disease Study 2015 (GBD 2015) Life Expectancy, All-Cause and Cause-Specific Mortality 1980-2015. Seattle, United States of America: Institute for Health Metrics and Evaluation (IHME) 2016.
50. World Health Organization. Healthy ageing and functional ability [homepage na Internet]. 2020. [acesso em 16 jan 2023]. Disponível em: <https://www.who.int/news-room/questions-and-answers/item/healthy-ageing-and-functional-ability>.
51. Brasil. Ministério da Saúde. Portaria nº 2.528 de 19 de outubro de 2006 que aprova a Política Nacional de Saúde da Pessoa Idosa. [portaria na Internet]. 2006 [acesso em 28 jan 2023] Disponível em: [https://sisapidoso.icict.fiocruz.br/sites/sisapidoso.icict.fiocruz.br/files/estatuto\\_do\\_idoso.pdf](https://sisapidoso.icict.fiocruz.br/sites/sisapidoso.icict.fiocruz.br/files/estatuto_do_idoso.pdf).
52. Moraes EN. Atenção à Saúde do Idoso: Aspectos Conceituais. Brasília: Organização Panamericana da Saúde; 2012; 98.
53. World Health Organization. World report on ageing and health. World Health Organization, 2015.
54. Cosco TD, Howse K, Brayne C. Healthy ageing, resilience and wellbeing. *Epidemiol Psychiatr Sci* 2017; 26(6):579-83.
55. Windle G, Markland DA, Woods RT. Examination of a theoretical model of psychological resilience in older age. *Aging Ment Health* 2008; 12(3):285-92.

56. Masten AS. Ordinary magic: Resilience processes in development. *Am Psychol* 2001; 56:227–38.
57. Tavares RE, Jesus MCPD, Machado DR, Braga VAS, Tocantins FR, Merighi MAB. Envelhecimento saudável na perspectiva de idosos: uma revisão integrativa. *Rev Bras Geriatr Gerontol* 2017; 20(6):878-89.
58. Abud T, Kounidas G, Martin KR, Werth M, Cooper K, Myint PK. Determinants of healthy ageing: a systematic review of contemporary literature. *Aging Clin Exp Res* 2022; 34(6):1215-23.
59. Pinheiro DPN. A resiliência em discussão. *Psicologia em Estudo*, 2004; 9:67-75.
60. Carlsson AC, Teobald H, Wandell PE. Health factors and longevity in men and women: a 26-year follow-up study. *Eur J Epidemiol* 2010; 25:547–51.
61. Kennedy, E. T. Evidence for nutritional benefits in prolonging wellness. *Am J Clin Nutr* 2006; 83:410-14.
62. Ekmekcioglu, C. The role of trace elements for the health of elderly individuals. *Food/Nahrung*, 2001; 45(5):309-16.
63. Chasapis CT, Loutsidou AC, Spiliopoulou CA, Stefanidou ME. Zinc and human health: an update. *Arch Toxicol* 2012; 86(4):521-34.
64. Olechnowicz J, Tinkov A, Skalny A, Suliburska J. Zinc status is associated with inflammation, oxidative stress, lipid, and glucose metabolism. *J Physiol Sci* 2018; 68(1):19-31.
65. Tubek S. Zinc supplementation or regulation of its homeostasis: advantages and threats. *Biol Trace Elem Res* 2007; 119(1):1-9.
66. Cousins RJ, Liuzzi JP, Lichten LA. Mammalian zinc transport, trafficking, and signals. *J Biol Chem* 2006; 281(34): 24085-89.
67. Hennigar SR, Lieberman HR, Fulgoni VL, 3rd, McClung JP. Serum Zinc Concentrations in the US population are related to sex, age, and time of blood draw but not dietary or supplemental zinc. *J Nutr* 2018; 148:1341-51.
68. Hambidge KM, Miller LV, Westcott JE, Sheng X, Krebs NF. Zinc bioavailability and homeostasis. *Am J Clin Nutr* 2010; 91(5):1478-83.
69. Krebs NF. Overview of zinc absorption and excretion in the human gastrointestinal tract. *J Nutr* 2000; 130(5):1374-77.
70. King JC, Brown KH, Gibson RS, Krebs NF, Lowe NM, Siekmann JH, Raiten DJ. Biomarkers of Nutrition for Development (BOND)—zinc review. *J Nutr* 2015; 146(4):858-85.

71. Duncan A, Talwar D, McMillan DC, Stefanowicz F, O'Reilly DSJ. Quantitative data on the magnitude of the systemic inflammatory response and its effect on micronutrient status based on plasma measurements. *Am J Clin Nutr* 2012; 95(1):64-71.
72. Kambe T, Tsuji T, Hashimoto A, Itsumura N. The physiological, biochemical, and molecular roles of zinc transporters in zinc homeostasis and metabolism. *Physiol Rev* 2015; 95(3):749-84.
73. De Leon-Rodriguez L, Lubag Jr AJM, Sherry AD. Imaging free zinc levels in vivo—What can be learned? *Inorganica Chim Acta* 2012; 393:12-23.
74. Cassandri M, Smirnov A, Novelli F, Pitolli C, Agostini M, Malewicz M, et al. Zinc-finger proteins in health and disease. *Cell Death Discov* 2017; 3(1):1-12.
75. Coverdale JP, Khazaipoul S, Arya S, Stewart AJ, Blindauer CA. Crosstalk between zinc and free fatty acids in plasma. *Biochim Biophys Acta, Mol Cell Biol Lipids* 2019; 1864(4):532-42.
76. Bozym RA, Chimienti F, Giblin LJ, Gross GW, Korichneva I, Li Y, et al. Free zinc ions outside a narrow concentration range are toxic to a variety of cells in vitro. *Exp Biol Med* 2010; 235(6):741-50.
77. Duarte GBS, Reis BZ, Cozzolino SMF. Zinco. In: Cozzolino SMF. *Biodisponibilidade de Nutrientes*. 6 ed. Barueri: Manole; 2020. p. 454-473.
78. Rink L. Zinc and the immune system. *Proc Nutr Soc* 2000; 59(4):541-52.
79. Roohani N, Hurrell R, Kelishadi R, Schulin R. Zinc and its importance for human health: An integrative review. *J Res Med Sci* 2013; 18:144-57.
80. Solomons NW. Dietary sources of zinc and factors affecting its bioavailability. *Food Nutr Bull* 2001; 22(2):138-154.
81. Ma J, Betts NM. 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; 130:2838–43.
82. Institute of Medicine (IOM). *Dietary reference intakes for vitamin A, vitamin K, arsenic, boron, chromium, copper, iodine, iron, manganese, molybdenum, nickel, silicon, vanadium, and zinc*. Washington (DC): The National Academies Press; 2001.
83. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. *Pesquisa de orçamentos familiares 2008-2009: análise do consumo alimentar pessoal no Brasil / IBGE, Coordenação de Trabalho e Rendimento*. Rio de Janeiro, IBGE, 2011. 150 p. Disponível em: <https://biblioteca.ibge.gov.br/index.php/biblioteca-catalogo?view=detalhes&id=250063>

84. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Pesquisa de orçamentos familiares 2017- 2018: análise do consumo alimentar pessoal no Brasil: IBGE; Coordenação de Trabalho e Rendimento. - Rio de Janeiro: IBGE; 2020.
85. Gibson RS. Principles of nutrition assessment. Oxford University Press; 2005.
86. Kim J, Paik HY, Joung H, Woodhouse LR, King JC. Plasma zinc but not the exchangeable zinc pool size differs between young and older Korean Women. *Biol Trace Elem Res* 2011; 142:130–6.
87. August D, Janghorbani M, Young VR. Determination of zinc and copper absorption at three dietary Zn–Cu ratios by using stable isotope methods in young adult and elderly subjects. *Am J Clin Nutr* 1989; 50:1457–63.
88. Hambidge KM, Miller LV, Westcott JE, Krebs NF. Dietary reference intakes for zinc may require adjustment for phytate intake based upon model predictions. *J Nutr* 2008; 138(12):2363–6.
89. Wastney ME, Ahmed S, Henkin RI. Changes in regulation of human zinc metabolism with age. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 1992; 263(5):1162-8.
90. Marcellini F, Giuli C, Papa R, Gagliardi C, Dedoussis G, Herbein G, et al. Zinc status, psychological and nutritional assessment in old people recruited in five European countries: Zincage study. *Biogerontology* 2006; 7:339-45.
91. Andriollo-Sanchez M, Hininger-Favier I, Meunier N, Toti E, Zaccaria M, Brandolini-Bunlon M, et al. Zinc intake and status in middle-aged and older European subjects: the ZENITH study. *Eur J Clin Nutr* 2005; 59(2):37-41.
92. Wessels I, Maywald M, Rink L. Zinc as a gatekeeper of immune function. *Nutrients* 2017; 9(12):1286.
93. Heffner KL. Neuroendocrine effects of stress on immunity in the elderly: implications for inflammatory disease. *Immunol Allergy Clin* 2011; 31(1):95-108.
94. Licastro F, Savorani G, Sarti G, Salsi A, Cavazzuti F, Zanichello L, et al. Zinc and thymic hormone-dependent immunity in normal ageing and in patients with senile dementia of the Alzheimer type. *J Neuroimmunol* 1990; 27(2-3):201-8.
95. Standstead HH, Hendriksen LK, Greger JL, Prasad AS, Good RA. Zinc nutriture in the elderly in relation to taste acuity, immune response, and wound healing. *Am J Clin Nutr* 1982; 36:1046-59.

96. Maxfield L, Shukla S, Crane JS. Zinc deficiency. In StatPearls [Internet]. StatPearls Publishing; 2022.
97. Tuerk MJ, Fazel N. Zinc deficiency. *Curr Opin Gastroenterol* 2009; 25: 136-43.
98. Barnett JB, Hamer DH, Meydani SN. Low zinc status: a new risk factor for pneumonia in the elderly? *Nutr Ver* 2010; 68:30–7.
99. Hawrysz Z, Woźniacka A. Zinc: an undervalued microelement in research and treatment. *Postepy Dermatol Alergol* 2023; 40(2):208-14.
100. Pati SK, Mukherji R. Serum zinc in corneal ulcer - a preliminary report. *Ind J Ophthalmol* 1991; 39:134-9.
101. McClain CJ, McClain M, Barve S, Boosalis MG. Trace metals and the elderly. *Clin Geriatr Med* 2002; 18:801-18.
102. Alberro A, Iribarren-Lopez A, Sáenz-Cuesta M, Matheu A, Vergara I, Otaegui D. Inflammaging markers characteristic of advanced age show similar levels with frailty and dependency. *Sci Rep* 2011; 11(1):4358.
103. Cousins RJ, Leinart AS. Tissue-specific regulation of zinc metabolism and metallothionein genes by interleukin 1. *FASEB J.* 2, 1988; 2884–90.
104. Mocchegiani E, Santarelli L, Costarelli L, Cipriano C, Muti E, Giacconi R, Malavolta M. Plasticity of neuroendocrine–thymus interactions during ontogeny and ageing: role of zinc and arginine. *Ageing Res Rev* 2006; 5(3):281-309.
105. Miyake M, Ogawa Y, Yoshida Y, Imaki M. Seven-year large cohort study for the association of serum albumin level and aging among community dwelling elderly. *Int J Anal Bio-Sci* 2011; 34(4).
106. Gom I, Fukushima H, Shiraki M, Miwa Y, Ando T, Takai K, Moriwaki H. Relationship between serum albumin level and aging in community-dwelling self-supported elderly population. *J Nutr Sci Vitaminol* 2007; 53(1):37-42.
107. Scott D, Blizzard L, Fell J, Giles G, Jones G. Associations between dietary nutrient intake and muscle mass and strength in community-dwelling older adults: the Tasmanian Older Adult Cohort study. *J Am Ger Soc* 2010; 58(11):2129-34.
108. Waters DL, Wayne SJ, Andrieu S, Cesari M, Villareal DT, Garry P, Vellas B. Sexually dimorphic patterns of nutritional intake and eating behaviors in community-dwelling older adults with normal and slow gait speed. *J Nutr Health Aging* 2014; 18(3):228-33.

109. Baumann CW, Kwak D, Liu HM, Thompson, LV. Age-induced oxidative stress: how does it influence skeletal muscle quantity and quality?. *J Appl Physiol* 2016; 121(5):1047-52.
110. Mocchegiani E, Romeo J, Malavolta M, Costarelli L, Giacconi R, Diaz L E, Marcos A. Zinc: dietary intake and impact of supplementation on immune function in elderly. *Age* 2013; 35:839-60.
111. Hsieh HL; Yang CM. Role of redox signaling in neuroinflammation and neurodegenerative diseases. *BioMed Res Int* 2013; 484613.
112. Sun R, Wang, J, Feng J, Cao B. Zinc in Cognitive Impairment and Aging. *Biomolecules* 2022; 12(7):1000.
113. Jung A, Spira D, Steinhagen-Thiessen E, Demuth I, Norman K. Zinc deficiency is associated with depressive symptoms—results from the Berlin Aging Study II. *J Gerontol: A Biol Sci Med Sci* 2017; 72(8):1149-54.
114. Rivas-García TE, Marcelo-Pons M, Martínez-Arnau F, Serra-Catalá N, Santamaría-Carrillo Y, Cauli O. Blood zinc levels and cognitive and functional evaluation in non-demented older patients. *Exp Gerontol* 2018; 108: 28-34.
115. Yu J, He Y, Yu X, Gu L, Wang Q, Wang S, et al. Associations Between Mild Cognitive Impairment and Whole Blood Zinc and Selenium in the Elderly Cohort. *Biol Trace Elem Res* 2022; 1-14.
116. Markiewicz-Żukowska R, Gutowska A, Borawska MH. Serum zinc concentrations correlate with mental and physical status of nursing home residents. *PLoS One* 2015; 10(1):0117257.
117. Zheng J, Mao X, Ling J, He Q, Quan J. Low serum levels of zinc, copper, and iron as risk factors for osteoporosis: a meta-analysis. *Biol Trace Elem Res* 2014; 160(1): 15-23.
118. Altarelli M, Ben-Hamouda N, Schneider A, Berger MM. Copper deficiency: causes, manifestations, and treatment. *Nutr Clin Pract* 2019; 34(4):504-13.
119. Forte G, Deiana M, Pasella S, Baralla A, Occhineri P, Mura I, et al. Metals in plasma of nonagenarians and centenarians living in a key area of longevity. *Exp Gerontol* 2014; 60:197-206.
120. Morris AL, Mohiuddin SS. Biochemistry, nutrients. [Internet]. 2020. [acesso em 01 mar 2023]. Disponível em: [https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK554545/#\\_NBK554545\\_pubdet\\_](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK554545/#_NBK554545_pubdet_)
121. Gaetke LM, Chow CK. Copper toxicity, oxidative stress, and antioxidant nutrients. *Toxicology* 2003; 189:147-63.

122. Mayank MC, Vipulkumar MV, Jyoti PT, Hardikkumar J. Biological Importance of Copper and Zinc Metal Complexes. *J Emerg Technol Innov Res* 2019; 6(4).
123. Jomova K, Valko M. Advances in metal-induced oxidative stress and human disease. *Toxicology* 2011; 283:65-87.
124. Osredkar J, Sustar N. Copper and Zinc, Biological Role and Significance of Copper/Zinc Imbalance. *J Clin Toxicol* 2011; S3:001
125. Brewer GJ. Avoiding Alzheimer's disease: The important causative role of divalent copper ingestion. *Exp Biol Med* 2019; 244(2):114-9.
126. Peng F, Xie F, Muzik, O. Alteration of Copper Fluxes in Brain Aging: A Longitudinal Study in Rodent Using  $^{64}\text{CuCl}_2$ -PET/CT. *Aging Dis* 2018; 9(1):109-18.
127. Sidhu A, Miller PJ, Hollenbach AD. FOXO1 stimulates ceruloplasmin promoter activity in human hepatoma cells treated with IL-6. *Biochem Biophys Res Commun* 2011; 404:963-7.
128. Osaki S, Johnson DA, Frieden E. The possible significance of the ferrous oxidase activity of ceruloplasmin in normal human serum. *J Biol Chem* 1996; 241, 2746-51.
129. Chapman AL, Mocatta TJ, Shiva S, Seidel A, Chen B, Khalilova I, Paumann-Page ME, et al. Ceruloplasmin is an endogenous inhibitor of myeloperoxidase. *J Biol Chem* 2013; 288:6465- 77.
130. Stafford SL, Bokil NJ, Achard ME, Kapetanovic R, Schembri MA, McEwan AG, Sweet MJ. Metal ions in macrophage antimicrobial pathways: emerging roles for zinc and copper. *Biosci Rep* 2013.
131. Olivares M, Méndez MA, Astudillo PA, Pizarro F. Present situation of biomarkers for copper status. *The American journal of clinical nutrition*, 2008; 88(3):859-62.
132. Schwarzschild LFCP, Medeiros ACQC. Cobre. In: Cozzolino SMF, Comnetti C. *Bases bioquímicas e fisiológicas da nutrição: nas diferentes fases da vida, na saúde e na doença*. Barueri: Manole; 2013; 271-88.
133. Dodani SC, Firl A, Chan J, Nam CI, Aron AT, Onak CS, et al. Copper is an endogenous modulator of neural circuit spontaneous activity. *Proc Natl Acad Sci* 2014; 111(46):16280-5.
134. Baker ZN, Cobine PA, Leary SC. The mitochondrion: a central architect of copper homeostasis. *Metallomics* 2017; 9(11):1501-12.
135. Crisponi G, Nurchi VM, Fanni D, Gerosa C, Nemolato S, Faa, G. Copper-related diseases: from chemistry to molecular pathology. *Coord Chem Rev* 2010; 254(7-8): 876-89.

136. Abou Zeid C, Kaler SG. Normal human copper metabolism. In *Wilson Disease: Pathogenesis, Molecular Mechanisms, Diagnosis, Treatment and Monitoring*. In: Weiss KH, Schilsky M. (Eds.). Academic Press 2019; 17-22.
137. Doguer C, Ha JH, Collins JF. Intersection of iron and copper metabolism in the mammalian intestine and liver. *Compr Physiol* 2018; 8(4):1433.
138. World Health Organization. International Atomic Energy Agency & Food and Agriculture Organization of the United Nations. *Trace elements in human nutrition and health*. World Health Organization, 1996.
139. Gromadzka G, Grycan M, Przybyłkowski AM. Monitoring of Copper in Wilson Disease. *Diagnostics* 2023; 13(11):1830.
140. Uriu-Adams JY, Keen CL. Copper, oxidative stress, and human health. *Mol Aspects Med* 2005; 26:268–98.
141. Sparks DL, Friedland R, Petanceska S, Schreurs BG, Shi J, Perry G, et al. Trace copper levels in the drinking water, but not zinc or aluminum influence CNS Alzheimer-like pathology. *J Nutr Health Aging* 2006; 10(4):247.
142. Morris MC, Evans DA, Tangney CC, Bienias JL, Schneider JA, Wilson RS, Scherr, PA. Dietary copper and high saturated and trans-fat intakes associated with cognitive decline. *Arch Neurol* 2006; 63(8):1085-8.
143. Bertinato J, Zouzoulas A. Considerations in the development of biomarkers of copper status. *J AOAC Int* 2009; 92(5):1541-50.
144. Milne DB, Nielsen FH. Effects of a diet low in copper on copper-status indicators in postmenopausal women. *Am J Clin Nutr* 1996; 63(3):358-64.
145. Muller PA, Klomp LW. Novel perspectives in mammalian copper metabolism through the use of genome-wide approaches. *Am J Clin Nutr* 2008; 88(3):821-5.
146. Rył A, Miazgowski T, Szylińska A, Turoń-Skrzypińska A, Jurewicz A, Bohatyrewicz A, Rotter I. Bone health in aging men: does zinc and cuprum level matter? *Biomolecules* 2021; 11(2):237.
147. Wacewicz M, Socha K, Soroczyńska J, Niczyporuk M, Aleksiejczuk P, Ostrowska J, Borawska MH. Selenium, zinc, copper, Cu/Zn ratio and total antioxidant status in the serum of vitiligo patients treated by narrow-band ultraviolet-B phototherapy. *J Dermatolog Treat* 2018; 29(2):190-5.

148. Socha K, Karpińska E, Kochanowicz J, Soroczyńska J, Jakoniuk M, Wilkiel M, et al. Dietary habits; concentration of copper, zinc, and Cu-to-Zn ratio in serum and ability status of patients with relapsing-remitting multiple sclerosis. *Nutrition* 2017; 39:76-81.
149. Antwi-Boasiako C, Dankwah GB, Aryee R, Hayfron-Benjamin C, Doku A, N'guessan BB, et al. Serum iron levels and copper-to-zinc ratio in sickle cell disease. *Medicina* 2019; 55(5):180.
150. Kazi Tani LS, Gourlan AT, Dennouni-Medjati N, Telouk P, Dali-Sahi M, Harek Y, et al. Copper isotopes and copper to zinc ratio as possible biomarkers for thyroid cancer. *Front Med* 2021; 8:698167.
151. Giacconi R, Costarelli L, Piacenza F, Basso A, Rink L, Mariani E, et al. Main biomarkers associated with age-related plasma zinc decrease and copper/zinc ratio in healthy elderly from ZincAge study. *Eur J Nutr* 2017; 56(8): 2457-66.
152. Malavolta M, Giacconi R, Piacenza F, Santarelli L, Cipriano C, Costarelli L, et al. Plasma copper/zinc ratio: an inflammatory/nutritional biomarker as predictor of all-cause mortality in elderly population. *Biogerontology* 2010; 11(3):309-19.
153. Gong Z, Song W, Gu M. Serum Copper and Zinc Concentrations and Cognitive Impairment in Older Adults Aged 60 Years and Older. *Biol Trace Elem Res* 2022; 200(4):1495-501.
154. Younesi S, Parsian H, Hosseini SR, Noreddini H, Mosapour A, Bijani A, et al. Dyshomeostasis of serum oxidant/antioxidant status and copper, zinc, and selenium levels in elderly physically disabled persons: an AHAP-based study. *Biol Trace Elem Res* 2015; 166(2):136-41.
155. Fernández-Cao JC, Warthon-Medina M, Moran VH, Arija V, Doepking C, Lowe, NM. Dietary zinc intake and whole blood zinc concentration in subjects with type 2 diabetes versus healthy subjects: A systematic review, meta-analysis and meta-regression. *J Trace Elem Med Biol* 2001; 49:241-51.
156. Lowe J, Taveira-da-Silva R, Hilário-Souza E. Dissecting copper homeostasis in diabetes mellitus. *Iubmb Life* 2017; 69(4):255-62.
157. Grochowski C, Blicharska E, Baj J, Mierzwińska A, Brzozowska K, Forma A, Maciejewski R. Serum iron, magnesium, copper, and manganese levels in alcoholism: a systematic review. *Molecules* 2019; 24(7):1361.
158. Ordak M, Bulska E, Jablonka-Salach K, Luciuk A, Maj-Żurawska M, Matsumoto, H, et al. Effect of disturbances of zinc and copper on the physical and mental health status of patients with alcohol dependence. *Biol Trace Elem Res* 2018; 183:9-15.

159. González-Reimers E, Martín-González MC, Alemán-Valls MR, de la Vega-Prieto MJ, Galindo-Martín L, Abreu-González P, Santolaria-Fernández F. Relative and combined effects of chronic alcohol consumption and HCV infection on serum zinc, copper, and selenium. *Biol Trace Elem Res* 2009; 132:75-84.
160. Roe DA. Nutrient and drug interactions. *Nutr Rev* 1984; 42(4):141-54.
161. Steele TH. Dissociation of zinc excretion from other cations in man. *J Lab Clin Med* 1973; 81(2):205-13.
162. Ahangar N, Naderi M, Noroozi A, Ghasemi M, Zamani E, Shaki F. Zinc deficiency and oxidative stress involved in valproic acid induced hepatotoxicity: protection by zinc and selenium supplementation. *Biol Trace Elem Res* 2017; 179:102-9.
163. Moraes EN, Lanna FM, Santos RR, Bicalho MAC, Machado CJ, Romero DE. A new proposal for the clinical-functional categorization of the elderly: visual scale of frailty (VSfrailty). *J Aging Res Clin Practice* 2016; 5(1):24-30.
164. Fried LP, Tangen CM, Walston J, Newman AB, Hirsch C, Gottdiener J, et al. Frailty in older adults: evidence for a phenotype. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 2001; 56(3):146-57.
165. Cruz-Jentoft AJ, Bahat G, Bauer J, Boirie Y, Bruyère O, Cederholm T, et al. Sarcopenia: revised European consensus on definition and diagnosis. *Age and ageing* 2019; 48(1):16-31.
166. World Health Organization. Physical activity [Internet]. 2018. [acesso em 02 set 2019]. Disponível em: [www.who.int/topics/physical\\_activity/en/](http://www.who.int/topics/physical_activity/en/).
167. Folstein MF, Folstein SE, McHugh PR. "Mini-mental state". A practical method for grading the cognitive state of patients for the clinician. *J Psychiatr Res* 1975; 12(3):189- 98.
168. Bertolucci, P. H., Brucki, S., Campacci, S. R., & Juliano, Y. (1994). O mini-exame do estado mental em uma população geral: impacto da escolaridade. *Arquivos de Neuro-psiquiatria*, 52, 01-07.
169. Anthony JC, Le Resche L, Niaz U, Von Korff MR, Folstein MF. Limits of the Mini-Mental State as a screening test for dementia and delirium among hospital patients. *Psychol Med* 1982, 12: 397-408.
170. Charlson ME, Pompei P, Ales KL, MacKenzie CR. A new method of classifying prognostic comorbidity in longitudinal studies: development and validation. *J Chronic Dis* 1987; 40(5):373-83.

171. Quan H, Li B, Couris CM, Fushimi K, Graham P, Hider P, et al. Updating and validating the Charlson Comorbidity Index and Score for Risk Adjustment in Hospital Discharge Abstracts Using Data from 6 Countries. *Am J Epidemiol* 2011.
172. Pfeffer RI, Kurosaki TT, Harrah JCH, Chance JM, Filos S. Measurement of functional activities in older adults in the community. *J Gerontol* 1982; 37(3):323-9.
173. World Health Organization. Physical status: the use and interpretation of anthropometry. Geneva; 1995. 452 p.
174. Barbosa-Silva TG, Bielemann RM, Gonzalez MC, Menezes ANB. Prevalence of sarcopenia among community-dwelling elderly of a medium-sized South American city: results of the COMO VAI? Study. *J Cachexia Sarcopenia Muscle* 2016; 7:136-46.
175. Wang J, Thornton JC, Bari S, Williamson B, Gallagher D, Heymsfield SB, et al. Comparisons of waist circumferences measured at 4 sites. *Am J Clin Nutr* 2003; 77(2):379-84.
176. World Health Organization. Obesity: preventing and managing the global epidemic. Geneva: World Health Organization; 1998.
177. Chumlea WC, Roche AF, Steinbaugh ML. Estimating stature from knee height for persons 60 to 90 years of age. *J Am Geriatr Soc* 1985; 33:116-20.
178. Chumlea WC, Guo S, Roche AF, Steinbaugh ML. Prediction of body weight for the nonambulatory elderly from anthropometry. *J Am Diet Assoc* 1988;88: 564e8.
179. Organización Panamericana de la Salud - OPAS. Encuesta Multicéntrica Salud Bienestar y Envejecimiento (SABE) en América Latina y el Caribe: informe preliminar. 36ª Reunión del Comité Asesor de Investigaciones en Salud; 2002; Kingston. Washington, D.C: OPAS. Disponível em: <https://iris.paho.org/handle/10665.2/45890?locale-attribute=pt>
180. Biodynamics Corporation. BIA 310 clinician tools: Quick start guide. [Internet] 1998. [acesso em 14 out 2023]. Disponível em: [https://www.biodyncorp.com/tools/310/quick\\_start\\_310.html](https://www.biodyncorp.com/tools/310/quick_start_310.html)
181. Kyle UG, Bosaeus I, De Lorenzo AD, Deurenberg P, Elia M, Gómez JM & Composição do Grupo de Trabalho ESPEN. Análise de impedância bioelétrica – parte I: revisão de princípios e métodos. *Nutrição clínica* 2004; 3(5):1226-43.
182. Baumgartner RN, Chumlea WC, Roche AF. Bioelectric impedance phase angle and body composition. *Am J Clin Nutr* 1988; 48:16 –23.
183. Peniche DBR, Giorguli GR, Aleman-Mateo H. Accuracy of a predictive bioelectrical impedance analysis equation for estimating appendicular skeletal muscle mass in a non-Caucasian sample of older people. *Arch Gerontol Ger* 2015; 61(1):39-43.

184. Roberts HC, Denison HJ, Martin HJ, Patel HP, Syddall H, Cooper C, et al. A review of the measurement of grip strength in clinical and epidemiological studies: towards a standardised approach. *Age Ageing* 2011; 40:423–9.
185. Nakano MM. Versão brasileira da Short Physical Performance Battery – SPPB: adaptação cultural e estudo da confiabilidade. [tese]. Campinas: Univesidade Estadual de Campinas; 2007. [Internet] [acesso 10 jul 2023] Disponível em [http://repositorio.unicamp.br/jspui/bitstream/REPOSIP/252485/1/Nakano\\_MarciaMariko\\_M.pdf](http://repositorio.unicamp.br/jspui/bitstream/REPOSIP/252485/1/Nakano_MarciaMariko_M.pdf).
186. Guralnik JM, Ferrucci L, Pieper CF, Leveille SG, Markides KS, Ostir GV, et al. Lower extremity function and subsequent disability: consistency across studies, predictive models, and value of gait speed alone compared with the short physical performance battery. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 2000; 55(4):221-31.
187. Guralnik JM, Ferrucci L, Simonsick EM, Salive ME, Wallace RB. Lower-extremity function in persons over the age of 70 years as a predictor of subsequent disability. *N Engl J Med* 1995; 332(9):556-62.
188. Ferrucci L, Penninx BW, Leveille SG, Corti MC, Pahor M, Wallace R, et al. Characteristics of nondisabled older persons who perform poorly in objective tests of lower extremity function. *J Am Ger Soc* 2000; 48(9):1102-10.
189. Penninx BW, Ferrucci L, Leveille SG, Rantanen T, Pahor M, Guralnik JM. Lower extremity performance in nondisabled older persons as a predictor of subsequent hospitalization. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 2000; 55(11):691-7.
190. Thompson FE, Byers T. Dietary assessment resource manual. *J Nutr* 1994; 124:2245S-317S.
191. Willett WC. *Nutritional epidemiology*. 2 ed. Oxford: Oxford University Press; 1998.
192. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Pesquisa de orçamentos familiares 2008- 2009: tabela de composição nutricional dos alimentos consumidos no Brasil. [Internet] Rio de Janeiro: IBGE, 2011. 345 p. [acesso em 02 set 2019]. Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/estatisticas/sociais/populacao/9050-pesquisa-de-orcamentosfamiliares.html?edicao=9063&t=publicacoes>.
193. Institute of Medicine. *Dietary reference intakes: the essential guide to nutrient requirements*. National Academies Press, 2006.
194. Marchioni DML, Slater B, Fisberg RM. Aplicação das Dietary Reference Intakes na avaliação da ingestão de nutrientes para indivíduos. *Rev Nutr* 2004; 17(2):207-16.

195. Whitehouse RC, Prasad AS, Rabbani PI, Cossack ZT. Zinc in plasma, neutrophils, lymphocytes, and erythrocytes as determined by flameless atomic absorption spectrophotometry. *Clin Chem* 1982; 28(3):475-80.
196. Instituto Adolfo Lutz (São Paulo, SP). Métodos físico-químicos para análise de alimentos. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz; 2008. 1020 p.
197. Association of Official Analytical Chemists-AOAC. Official methods of analysis. Washington, DC, 19<sup>th</sup> ed.; 2012.
198. Harrington JM, Young DJ, Essader AS, Sumner SJ, Levine KE. Analysis of human serum and whole blood for mineral content by ICP-MS and ICP-OES: development of a mineralomics method. *Biol Trace Elem Res* 2014; 160(1):132-42.
199. Vitoux D, Arnaud J, Chappuis P. Are copper, zinc and selenium in erythrocytes valuable biological indexes of nutrition and pathology? *J Trace Elem Med Biol.* 1999; 13(3):113-28.
200. Gow PJ, Smallwood RA, Angus PW, Smith AL, Wall AJ, Sewell RB. Diagnosis of Wilson's disease: an experience over three decades. *Gut* 2000; 46(3):415-19.

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 Artigos Originais

Propondo-se responder os objetivos desta dissertação e em concordância às normas do Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Saúde da Escola de Enfermagem da UFMG, nesta seção encontram-se dois artigos originais redigidos segundo às normas das revistas de interesse para publicação, sendo estas a Biological Trace Element Research e Nutrition para os artigos 1 e 2, respectivamente (cujas instruções aos autores estão no ANEXO D e E).

#### ARTIGO 1

##### 5.1.1 Estado nutricional de cobre e zinco de acordo com o sexo em idosos longevos com envelhecimento saudável de Minas Gerais, Brasil

#### RESUMO

**Objetivo:** Determinar os biomarcadores plasmáticos, eritrocitários e urinários de cobre e zinco em idosos longevos saudáveis e sua relação com a ingestão destes minerais. **Métodos:** Estudo transversal com idosos de 80 anos ou mais com envelhecimento saudável. Os biomarcadores plasmáticos, eritrocitários e urinários foram avaliados a partir de amostras de sangue e de urina de 24 horas. O consumo alimentar de cobre, zinco, energia e proteínas foi avaliado por três registros alimentares de dias não consecutivos. **Resultados:** Foram incluídos 71 idosos saudáveis com mediana de idade de 84 (82-87) anos, sendo 55% do sexo feminino. 53,4% e 42,3% da amostra apresentou inadequação para ingestão de zinco e cobre, respectivamente. Em relação ao zinco, 43,7%, 7% e 57,1%, dos idosos apresentaram adequação para os biomarcadores plasmáticos, eritrocitários e urinários, respectivamente. Quanto ao cobre, a adequação foi encontrada em 100%, 100% e 3,17% da amostra para os respectivos compartimentos. Não houve correlação, considerando média e percentual de adequação, entre os biomarcadores e as variáveis de consumo dietético. **Conclusão:** Mesmo no contexto do envelhecimento saudável, observamos alta prevalência de inadequação para todos os biomarcadores de zinco enquanto apenas o biomarcador urinário de cobre esteve alterado. Apesar do alto percentual de inadequação para o consumo destes micronutrientes, estes não foram associados aos biomarcadores de zinco e cobre.

**Palavras-chave:** Idoso de 80 anos ou mais. Envelhecimento saudável. Minerais. Zinco. Cobre.

## ABSTRACT

**Objective:** To determine plasma, erythrocyte and urinary biomarkers of copper and zinc in healthy elderly people and their relationship with the intake of these minerals. **Methods:** Cross-sectional study with elderly people aged 80 or over with healthy aging. Socioeconomic and health data were collected. Plasma, erythrocyte and urinary biomarkers were assessed from 24-hour blood and urine samples. Dietary consumption of copper, zinc, energy and proteins was assessed by three food records on non-consecutive days. **Results:** 71 healthy elderly people with a median age of 84 (82-87) years were included, 55% of whom were female. 53.4% and 42.3% of the sample presented inadequate intake of zinc and copper, respectively. In relation to zinc, 43.7%, 7% and 57.1% of the elderly were adequate for plasma, erythrocyte and urinary biomarkers, respectively. As for copper, adequacy was found in 100%, 100% and 3,17% of the sample for the respective compartments. There was no correlation, considering the mean and percentage of adequacy, between the biomarkers and the dietary intake variables (mean and percentage of adequacy). **Conclusion:** Even in the context of healthy aging, we observed a high prevalence of inadequacy for all zinc biomarkers while only the urinary copper biomarker was altered. Despite the high percentage of inadequate consumption of these micronutrients, they were not associated with zinc and copper biomarkers.

**Keywords:** Aged 80 or over. Healthy aging. Minerals. Zinc. Copper.

## INTRODUÇÃO

Minerais são elementos químicos inorgânicos com propriedades diferentes e natureza diversa, alguns deles com caráter essencial para a espécie humana que, uma vez captados da dieta são incorporados ao meio sanguíneo circulante para atingirem tecidos alvo e se esses estiverem saturados, levados à excreção pelo trato gastrintestinal ou urinário. Ao longo de toda a vida, esse ciclo homeostático pode sofrer reajustes e pode ser influenciado por ajustes fisiológicos ou por mecanismos fisiopatológicos ligados a comorbidades com alto grau de prevalência no envelhecimento [1].

A nutrição adequada está intrinsecamente relacionada à possibilidade de aumento da expectativa e qualidade de vida da população idosa, mas também à importantes processos de morbimortalidade que avançam com a senescência [2,3]. Alguns minerais, em razão de sua intensa participação em processos metabólicos, podem favorecer o envelhecimento saudável e, especialmente a manutenção da funcionalidade [4], mas se faz necessária maior investigação do estado nutricional relativo a estes micronutrientes no contexto de idosos longevos e saudáveis.

Neste cenário, o zinco (Zn) é fundamental uma vez que exerce funções metabólicas, estruturais, catalíticas e regulatórias, cujo maior efeito se dá sob a modulação da resposta, proliferação e sobrevivência das células T. Assim, a deficiência de Zn no envelhecimento pode estar associada à imunossenescência, bem como, à fragilidade [5]. Por sua vez, o cobre (Cu) também exerce um importante papel no sistema imunológico já que é fundamental para o transporte de elétrons, reticulação de colágeno e elastina e oxidação de ferro, entre outras funções [6].

No contexto do envelhecimento, há alterações orgânicas que aumentam o risco para o quadro de deficiência plasmática e eritrocitária de Zn enquanto o estado nutricional do Cu parece não ser afetado [7]. Ademais, o consumo de alimentos fonte de Zn também tende a reduzir com o avançar da idade [8].

Segundo a OMS, o aumento da expectativa de vida deve ser acompanhado da manutenção da qualidade de vida, sem grandes implicações na capacidade funcional, pelo maior período possível [9]. Considerando que o percentual de idosos com mais de 80 anos deverá triplicar nas próximas três décadas no Brasil [10], conhecer o estado nutricional relativo ao Cu e ao Zn em uma amostra de idosos longevos poderá contribuir para maior elucidação do perfil de marcadores e da influência destes micronutrientes sobre o envelhecimento saudável.

## MATERIAIS E MÉTODOS

### Desenho do estudo

Estudo transversal observacional alinhado à um estudo de coorte aberta, prospectivo e analítico, cuja amostra é de idosos longevos atendidos no Ambulatório de Atenção Multiprofissional ao Idoso Robusto e em Risco de Fragilização, do Serviço de Geriatria e Gerontologia do Instituto Jenny de Andrade Faria do Hospital das Clínicas (HC) da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG) e voluntários externos alcançados por meio de divulgação da pesquisa. A coleta de dados se deu no período de dezembro de 2018 a maio de 2023, com interrupção entre março de 2020 e agosto de 2021 devido a Pandemia de Covid-19.

A pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG, com número de Certificado de apresentação e apreciação ética 85566218.0.0000.5149.

### Participantes

A amostra por conveniência abrangeu idosos com envelhecimento saudável com idade superior ou igual a 80 anos e centenários saudáveis ou em risco de fragilização que assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE). O envelhecimento saudável foi definido de acordo com a Classificação Clínico-Funcional dos Idosos [11], elaborada pelo Serviço de Geriatria da UFMG. Esta classificação abrange dez categorias clínico-funcionais que abordam o grau de vitalidade (reserva homeostática) e de fragilidade, sendo que este último conceito abrange diferentes níveis de dependência nas atividades de vida diária instrumentais e/ou básicas.

Os centenários, ainda que em risco de fragilização, foram elegíveis por serem reflexo de um processo de envelhecimento saudável bem-sucedido [11]. Os critérios de não inclusão foram: idosos frágeis, institucionalizados, sarcopênicos, com diagnóstico de diabetes mellitus, em uso de digitálicos, furosemida e ácido valpróico e/ou aqueles que consumiam diariamente bebida alcoólica. Idosos que não quiseram continuar participando da pesquisa em qualquer momento e aqueles onde ocorreu perda ou impossibilidade da análise dos biomarcadores plasmáticos de Cu ou Zn foram excluídos.

### Coleta e aferição das variáveis de interesse

Os dados sociodemográficos e de saúde coletados foram: idade, sexo, raça autorreferida, anos de escolaridade, renda per capita, número de comorbidades, uso e número de fármacos utilizados, capacidade cognitiva, a partir da pontuação do Mini Exame do Estado Mental (MEEM) [12], prática de atividade e exercício físico e índice de comorbidade de Charlson [13] calculado pelo MD+Calc. O ponto de corte adotado para o teste MEEM foi de  $\leq 24$  pontos para inadequação (passando para  $\leq 17$  pontos nos casos em que o tempo de escolaridade for menor que 4 anos) [14]. O Questionário de Atividades Funcionais de Pfeffer também foi aplicado e o ponto de corte adotado foi  $\geq 9$  pontos [15].

Peso e estatura foram aferidos seguindo as técnicas da OMS [16], com exceção dos centenários, que tiveram estes parâmetros estimados devido à dificuldade em se manterem em posição adequada para aferição. Na ausência de equações preditivas específicas para peso e estatura em idosos longevos, utilizamos as equações propostas por Chumlea et al., (1985,1988) [17,18]

O Índice de Massa Corporal (IMC) foi utilizado para a classificação do estado nutricional, sendo calculado a partir da divisão do peso, em quilogramas (kg), pela estatura, em metros (m), elevada ao quadrado. Utilizamos a classificação proposta pela Organização Panamericana da Saúde (2002) onde um IMC menor ou igual à  $23 \text{ kg/m}^2$  corresponde à baixo peso; maior que 23 e menor que 28 classifica eutrofia; maior ou igual a 28 retrata excesso de peso enquanto IMC maior ou igual a 30 estratifica obesidade [19].

A avaliação do consumo alimentar englobou calorias, proteínas e Cu e Zn e foi realizada por registro alimentar de 3 dias não consecutivos, incluindo um dia do final de semana [20, 21]. Os participantes e/ou acompanhantes foram orientados quanto ao preenchimento detalhado dos alimentos ingeridos ao longo do dia com suas respectivas quantidades, seja em medida caseira, unidade, volume ou gramatura. Informações adicionais relativas a consumo temporal de óleo, sal e água também foram coletadas para obtenção do per capita destes ingredientes. O uso de suplementos nutricionais (de macro e micronutrientes) também foi averiguado.

A composição da dieta foi calculada segundo metodologia proposta pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística [22], no programa “Brasil Nutri” 2ª edição, considerando-se a média dos dias de registro alimentar. A ingestão diária calórica e proteica foi adequada pelo peso corporal em kg. A probabilidade de adequação do consumo de minerais foi obtida pela fórmula:  $Z = \frac{\text{Média da ingestão} - \text{EAR}}{[\text{Vinter} + (\text{Vntra}/n)]^{1/2}}$ , onde: Z= Escore Z; EAR= necessidade média estimada;

Vinter: variância interpessoal; Vintra: variância intrapessoal; n: número de dias de registro alimentar. Foram utilizados os valores de variâncias inter e intrapessoal propostos pelo *Institute of Medicine* (IOM) [23]. O resultado é um escore-Z posteriormente convertido na tabela de valores Z determinando-se, então, a probabilidade de adequação dietética.

Foram avaliados os marcadores plasmáticos, eritrocitários e urinários de Cu e Zn. A coleta de 11 ml de sangue venoso em tubos a vácuo com citrato de sódio foi realizada com os participantes em jejum mínimo de 12 horas. O plasma foi separado por centrifugação (CIENITEC® 4K15, São Paulo, Brasil) a 1831 x a força centrífuga (G) durante 15 minutos a 4 °C e acondicionado em microtubos desmineralizados. Para separação dos eritrócitos e determinação dos minerais, foram utilizados os métodos propostos por Whitehouse et al. (1982) [24].

Para análise dos biomarcadores urinários, uma amostra de urina de 24 horas foi coletada em frasco plástico âmbar ou transparente previamente desmineralizado com demarcações em milímetros, cujo volume total é de 2,5L. O volume urinário total foi anotado e uma alíquota de 44 mL foi retirada para microtubos desmineralizados (4 mL) e conservado em freezer a -20°C.

A análise elementar de Cu e Zn foi realizada em Espectrometria de Emissão Óptica com uma configuração de vista axial e um nebulizador V-Groove (720 ICP-OES- Espectrômetro de emissão óptica com plasma acoplado indutivamente, Varian Inc., Califórnia, EUA) no laboratório de Espectroscopia de Emissão Atômica - Instrumentação Analítica, segundo metodologia proposta pela Association of Analytical Chemists (2012) [25].

Os limites de detecção tanto para o Cu quanto para o Zn foram medidos a partir da equação  $3 \times DP$  de 10 medições do branco, dividido pela declividade da curva de calibração. Soluções estoque monoelementais de Zn e Cu  $1000 \text{ mg.L}^{-1}$  (Titrisol e Certipur - Merck, Germany) foram utilizados na preparação de soluções de referência, diluídas em água ultrapura ( $18 \text{ M}\Omega\text{.cm}^{-1}$  Milli-Q - Millipore, Bedford, Massachusetts) para a curva de calibração e otimização das condições analíticas. Após teste de linhas de emissão, o Zn foi lido num comprimento de onda de 213,856 nm e o Cu em comprimento de onda de 324,760 nm. As amostras foram medidas em triplicata. Amostras de material de referência certificado, Seronorm TM Oligoelement Serum L1 e L-2 (Billingstad, Noruega) foram determinadas para validar as medições analíticas em Espectrometria de emissão óptica com plasma (ICP-OES).



As amostras de plasma foram diluídas em 1:20 volume/volume (v/v) da seguinte forma: 3,0% massa/volume 1-butanol, 0,1% (v/v) TAMA (surfactante de alta pureza), 0,05% (v/v) HNO<sub>3</sub>. As amostras de eritrócitos/papa de hemácias foram diluídas em 1:60 volume/volume (v/v) da seguinte forma: 3,0% massa/volume 1-butanol, 0,2% v/v TAMA (surfactante de alta pureza), 0,1% v/v HNO<sub>3</sub> (ácido nítrico). Para as amostras de urina, foi utilizado um sistema assistido de micro-ondas Mars 6 (CEM®, EUA) com digestão ácida com HNO<sub>3</sub> a 65% (1 ml de HNO<sub>3</sub>: 9 ml de água deionizada). Após a digestão, as soluções foram diluídas 1:40 v/v em água ultrapura e colocadas em frascos volumétricos.

O valor de referência (VR) utilizado para avaliação do biomarcador de Cu plasmático foi de 70 a 155 ug/dL (micrograma por decilitro) [26], para o biomarcador eritrocitário de 30,5 a 132,2 ug/dL [27] e para o urinário < 100 ug Cu/24h (micrograma por 24 horas) [28]. Já para o Zn, os valores foram de 75 a 110 µg/dl para o biomarcador plasmático [29], 40 a 44 µg/gHb (micrograma por grama de hemoglobina) para o eritrocitário [27] e 300 a 600 ug Zn/24h para o urinário [29].

#### Análises estatísticas

Em relação a análise estatística, a normalidade das variáveis foi avaliada pelo teste de Kolmogorov-Smirnov. As de distribuição normal foram descritas em médias e desvio-padrão, as de distribuição não-normal em medianas e intervalo interquartil (IIQ) e as variáveis categóricas foram descritas em números absolutos e percentuais. A amostra foi dicotomizada por sexo para as análises com as variáveis de consumo alimentar e biomarcadores de minerais.

A comparação de médias foi realizada pelo Teste t de Student para amostras independentes ou Teste Mann-Whitney para variáveis numéricas com distribuição normal e não normal, respectivamente. As variáveis categóricas foram comparadas pelo teste de Qui-quadrado de Pearson ou Exato de Fisher de acordo com a proporção de frequências esperadas menores que 5. Correlações de Pearson ou Spearman foram realizadas para correlacionar as variáveis de consumo alimentar com os biomarcadores de minerais. Os dados foram analisados através do programa Statistical Package for the Social Sciences (SPSS versão 19.0) considerados significativos valores de  $p < 0,05$ .

## RESULTADOS

Foram incluídos 71 idosos no estudo com mediana de idade de 84 (82-87) anos. A característica da população está apresentada na Tabela 1. Destaca-se que 85,9% dos participantes apresentaram adequação para a classificação MEEM. Ressalta-se também a mediana de comorbidades de 2 (1-3) e o baixo número de fármacos utilizados. Ocorreram 11 perdas de indivíduos da amostra original, 8 delas para a coleta de urina 24h em razão de incontinência urinária e 3 para avaliação do consumo alimentar em decorrência da perda de informações do recordatório de 24 horas.

Tabela 1 – Características demográficas, socioeconômicas e de saúde segundo o sexo dos idosos longevos estudados

| Variáveis  | n  | Total                | Sexo                  |                      | Valor p            |
|--|----|----------------------|-----------------------|----------------------|--------------------|
|  |    |                      | Masculino<br>(n = 32) | Feminino<br>(n = 39) |                    |
| Idade <sup>a</sup>                                 | 71 | 84 (82-87)           | 84 (81,25-86,75)      | 84 (82-90)           | 0,776*             |
| Raça <sup>b</sup>                                  | 69 |                      |                       |                      | 0,082 <sup>‡</sup> |
| Branca   |    | 37 (53,6%)           | 13 (40,6%)            | 24 (64,9%)           |                    |
| Negra  |    | 29 (42,0%)           | 18 (56,2%)            | 11 (29,7%)           |                    |
| Outras   |    | 3 (4,3%)             | 1 (3,1%)              | 2 (5,4%)             |                    |
| Escolaridade <sup>a</sup>                          | 71 | 4 (2-8)              | 4 (3-6,75)            | 4 (1-8)              | 0,714*             |
| Renda per capita (dólares) <sup>a</sup>            | 71 | 240,6 (199,1 -548,3) | 245,6 (190,9-568,0)   | 219,4 (190,9-543,6)  | 0,784*             |
| Classificação QAF <sup>b</sup>                     | 68 |                      |                       |                      | 0,496 <sup>‡</sup> |
| Adequado   |    | 68 (100%)            | 31 (100%)             | 37 (100%)            |                    |
| Pontuação MEEM                                     | 64 | 26 (23-28)           | 26 (23,25-28)         | 25,5 (23-28)         | 0,387*             |
| Classificação MEEM <sup>b</sup>                    | 64 |                      |                       |                      | 0,488 <sup>‡</sup> |
| Adequado   |    | 55 (85,9%)           | 23 (82,1%)            | 32 (88,9%)           |                    |
| Número de comorbidades <sup>a</sup>                | 67 | 2 (1-3)              | 2 (1-2)               | 2 (1-3)              | 0,061*             |
| Pontuação Charlson <sup>a</sup>                    | 67 | 5 (4-5)              | 5 (4-5)               | 5 (4-5)              | 0,978*             |
| Percentual de sobrevivência (10 anos) <sup>a</sup> | 67 | 21 (21-53)           | 21 (21-53)            | 21 (21-53)           | 0,978*             |
| Uso de fármacos <sup>b</sup>                       | 70 |                      |                       |                      | 1,000 <sup>‡</sup> |
| Sim  |    | 66 (94,3%)           | 30 (93,7%)            | 36 (94,7%)           |                    |

|                                       |    |                    |                    |                    |                    |
|---------------------------------------|----|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| Número de fármacos <sup>a</sup>       | 70 | 2 (2-4)            | 2 (2-4)            | 3 (2-4)            | 0,477*             |
| IMC <sup>a</sup>                      | 71 | 25,6 (23,4 - 28,6) | 24,7 (22,1 - 27,7) | 26,7 (23,9 - 28,7) | 0,063*             |
| Pratica atividade física <sup>b</sup> | 69 |                    |                    |                    | 0,405 <sup>‡</sup> |
| Sim                                   |    | 63 (91,3%)         | 28 (87,5%)         | 35 (94,6%)         |                    |
| Pratica exercício físico <sup>b</sup> | 69 |                    |                    |                    | 0,169 <sup>‡</sup> |
| Sim                                   |    | 37 (53,6%)         | 20 (62,5%)         | 17 (45,9%)         |                    |

QAF: Questionário de Atividades Funcionais; MEEM: Mini exame do estado mental; IMC: Índice de Massa Corporal. Atividade física: movimentos corporais com gasto energético como serviços domésticos, jardinagem e locomoção. Exercício físico: ação planejada com o intuito de manter ou alcançar estado físico e de saúde, como musculação, caminhada, entre outros.

<sup>a</sup> Mediana (IQ)

<sup>b</sup> Número absoluto e percentual

Valores p derivados do \*Teste U Mann-Whitney e <sup>‡</sup>Teste Qui-quadrado.

De acordo com a Tabela 2, 43,7%, 7,0% e 57,1% dos idosos apresentaram adequados níveis de Zn plasmático, eritrocitário e urinário, respectivamente. A média ou mediana para os respectivos compartimentos foi de 74,55 ( $\pm$  4,49)  $\mu\text{g/dl}$ , 34,71 (32,48-37,32)  $\mu\text{g/gHb}$  e 375,14 (296,26-451,03)  $\mu\text{g Zn/24 h}$ . No que diz respeito aos biomarcadores de Cu, encontramos 96,8% de inadequação para níveis urinários, os quais se encontram elevados, enquanto 100% da amostra apresentaram concentrações plasmáticas e eritrocitárias de Cu adequadas. A média ou mediana para os níveis plasmáticos, eritrocitários e urinários de Cu foram 112,06 ( $\pm$  8,12)  $\mu\text{g/dl}$ , 65,01 ( $\pm$  5,18)  $\mu\text{g/dl}$  e 179,94 (144,09-225,75)  $\mu\text{g Cu/24h}$ , respectivamente.

Tabela 2 - Biomarcadores plasmáticos, eritrocitários e urinários de zinco e cobre e dados de consumo alimentar segundo o sexo dos idosos longevos estudados

| Variáveis   | n  | Total                  | Sexo                   |                        | Valor p            |
|---|----|------------------------|------------------------|------------------------|--------------------|
|   |    |                        | Masculino<br>(n = 32)  | Feminino<br>(n = 39)   |                    |
| Zn plasmático ( $\mu\text{g/dL}$ ) <sup>c</sup>     | 71 | 74,55 ( $\pm$ 4,49)    | 75,38 ( $\pm$ 4,59)    | 73,87 ( $\pm$ 4,35)    | 0,159 <sup>†</sup> |
| Zn eritrocitário ( $\mu\text{g/gHb}$ ) <sup>a</sup> | 71 | 34,71 (32,48-37,32)    | 35,88 (33,33-38,33)    | 34,23 (32,41-36,66)    | 0,130*             |
| Zn urinário ( $\mu\text{g Zn/24h}$ ) <sup>a</sup>   | 63 | 375,14 (296,26-451,03) | 299,25 (262,48-410,56) | 395,35 (318,32-490,64) | 0,010*             |
| Cu plasmático ( $\mu\text{g/dL}$ ) <sup>c</sup>     | 71 | 112,06 ( $\pm$ 8,12)   | 110,95 ( $\pm$ 7,8)    | 112,97 ( $\pm$ 8,37)   | 0,299 <sup>†</sup> |
| Cu eritrocitário ( $\mu\text{g/dL}$ ) <sup>c</sup>  | 71 | 65,01 ( $\pm$ 5,18)    | 65,05 ( $\pm$ 5,54)    | 64,97 ( $\pm$ 4,95)    | 0,952 <sup>†</sup> |

|  |    |                        |                       |                        |        |
|--|----|------------------------|-----------------------|------------------------|--------|
| Cu urinário ( $\mu\text{g Cu}/24\text{h}$ ) <sup>a</sup> | 63 | 179,94 (144,09-225,75) | 153,76 (124,9-206,77) | 197,72 (157,66-247,34) | 0,021* |
|--|----|------------------------|-----------------------|------------------------|--------|

|                                |    |                     |                      |                     |        |
|--------------------------------|----|---------------------|----------------------|---------------------|--------|
| Energia (kcal/kg) <sup>c</sup> | 68 | 30,03 ( $\pm$ 9,57) | 32,42 ( $\pm$ 10,26) | 27,91 ( $\pm$ 8,50) | 0,051† |
| Proteína (g/kg) <sup>a</sup>   | 68 | 0,99 (0,79-1,31)    | 1,03 (0,85-1,30)     | 0,92 (0,76-1,31)    | 0,285* |
| Zn dietético (mg) <sup>a</sup> | 68 | 7,73 (5,91-10,11)   | 8,79 (7,03-11,97)    | 6,66 (5,36-7,94)    | 0,001* |
| Cu dietético (mg) <sup>a</sup> | 68 | 0,78 (0,56-1,1)     | 0,92 (0,58-1,31)     | 0,72 (0,54-0,91)    | 0,054* |

Zn: zinco; Cu: cobre; kcal/kg: quilocalorias por quilogramas; g/kg: gramas/quilograma; mg: miligramas.

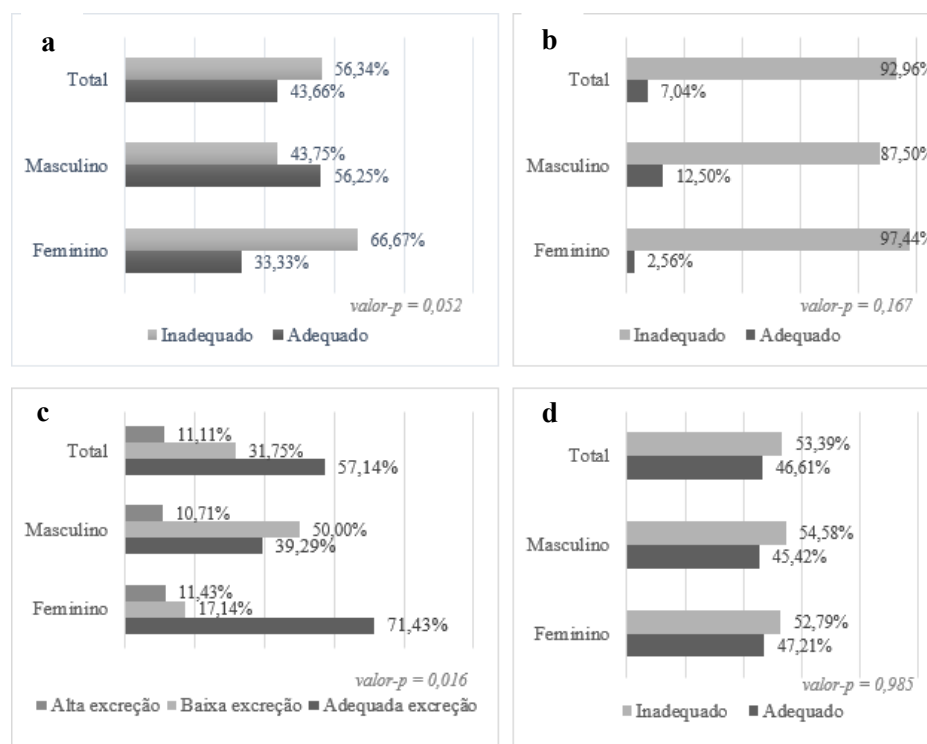
<sup>a</sup> Mediana (P25 - P75)

<sup>c</sup> Média e desvio padrão

Valores p derivados do \*Teste U Mann-Whitney; †Teste t de Student para amostras independentes.

Com relação ao consumo destes minerais, a mediana para Zn (mg) e Cu (mg) foi de 7,73 (5,91-10,11) e 0,78 (0,56-1,1), respectivamente. Um percentual de adequação mediano de 57,73% (36,13-79,74) foi encontrado para a ingestão de Cu e de 46,61% (31,74-66,36) para o consumo de Zn. Os percentuais de adequação para os biomarcadores plasmáticos, eritrocitários e urinários de Zn e Cu, e o percentual de adequação da ingestão destes minerais estão representados na Figura 1.

Observou-se diferença estatisticamente significativa para a excreção urinária de Zn ( $p = 0,016$ ), bem como para a ingestão de Zn ( $p = 0,001$ ) e adequação do consumo de Cu ( $p = 0,046$ ) entre homens e mulheres.



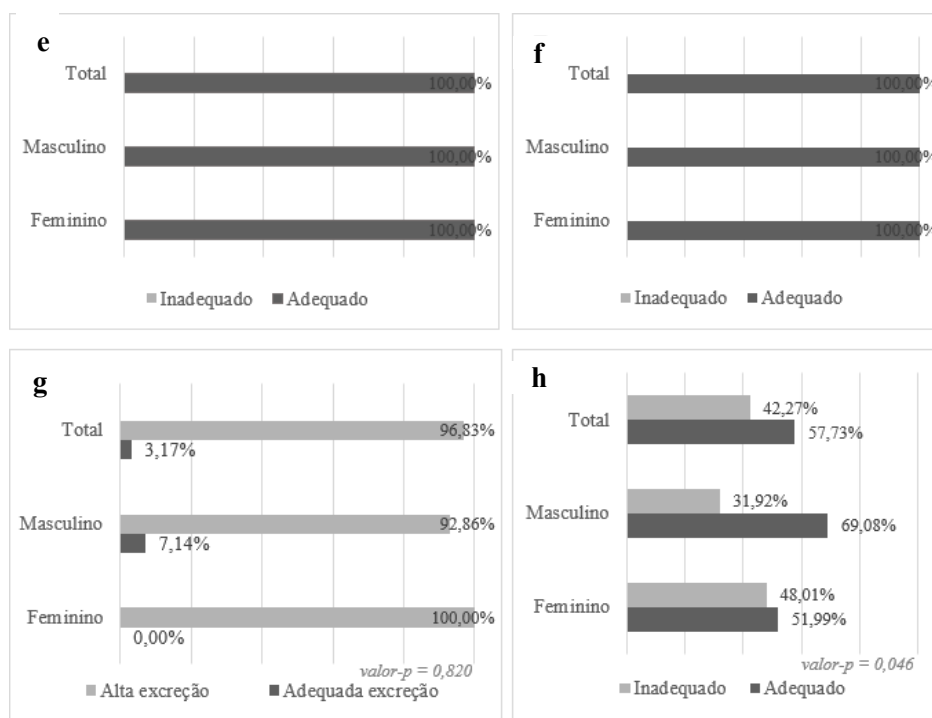


Figura 1 - Representação gráfica da adequação dos biomarcadores plasmáticos, eritrocitários, urinários e dietéticos de Zn e Cu.

**Fig. 1** (a) Percentual de adequação para Zn plasmático. (b) Percentual de adequação para Zn eritrocitário. (c) Percentual de adequação para Zn urinário. (d) Percentual de adequação para Zn dietético. (e) Percentual de adequação para Cu plasmático. (f) Percentual de adequação para Cu eritrocitário. (g) Percentual de adequação para Cu urinário. (h) Percentual de adequação para Cu dietético

## DISCUSSÃO

Encontramos uma concentração plasmática de Zn ligeiramente abaixo do valor de referência adotado. Quanto à ingestão de Zn, encontramos uma mediana de ingestão significativamente diferente entre os sexos e abaixo do preconizado pelo IOM (EAR: 9,4 e 6,8 mg/dia para o sexo masculino e feminino, respectivamente) [30]. De forma semelhante, Artacho et al., (1997) encontraram uma média de  $68,6 \pm 22,9$  ug/dL para Zn no plasma e  $7.82 \pm 1.41$  mg para o Zn dietético, tendo este variado entre homens e mulheres ( $10,01 \pm 1,76$  e  $7,33 \pm 1,33$  mg/dia, respectivamente;  $p < 0,001$ ) em uma amostra de idosos saudáveis institucionalizados com 81,4 (7,9) anos [31].

Em contrapartida, Swanson et al. (1988) encontraram valores médios normais de Zn plasmático ( $84,97 \pm 1,3$  ug/dL) e dietético ( $9,2$  mg/d  $\pm 0,6$ ), sem diferença entre sexos, em amostra

de idosos saudáveis com média de idade de 77 anos [32]. O estudo ZENITH, com amostra de idosos saudáveis, encontrou médias ainda maiores para Zn plasmático e dietético -  $86,34 \pm 11,2$  ug/dL para o Zn no plasma e ingestão média de Zn de  $11,32 \pm 5,16$  mg/dia [33]. Gibson, Martinez e MacDonald (1985) estudando mulheres idosas saudáveis encontraram médias de  $109,0 \pm 13,0$  ug/dL e  $10,1 \pm 3,5$  mg/dia [34]. O *The Concord Health and Ageing in Men Project* (CHAMP) com idosos ativos com idade superior a 75 anos encontrou 35% de inadequação para o consumo de Zn, cuja média foi de 13,3 mg/dia [35]. No subgrupo de 225 idosos com idade superior a 70 anos analisados pelo *Mediterranean Healthy Eating, Ageing, and Lifestyle (MEAL) Study* foi encontrada uma média de consumo de  $11,76 (\pm 0,24)$  mg/dia de Zn, sem diferenças significativas entre os sexos [36].

A diferença observada entre os sexos para o consumo de energia pode explicar parcialmente a discrepância entre a ingestão de Zn ( $8,79$  ( $7,03$ - $11,97$ ) para homens vs  $6,66$  ( $5,36$ - $7,94$ ) para mulheres,  $p = 0,001$ ). Ademais, esta discrepância é possivelmente justificada pelo fato de homens consumirem maior quantidade de fontes protéicas provenientes de produtos de origem animal (maiores fontes de Zn) se comparados às mulheres [8].

Ainda no que se refere ao consumo médio de Zn no estudo em tela, apesar deste ter variado significativamente entre os sexos, no que tange ao percentual de adequação, não houve diferença entre os grupos, sendo que apenas 46,61% ( $31,74$ - $66,36$ ) dos participantes apresentaram ingestão adequada para este mineral. Este achado difere do observado pela Pesquisa de Orçamentos Familiares (POF) de 2008-2009 e 2017-2018 que calculou a prevalência de adequação do consumo de minerais em idosos com 60 anos ou mais através recordatório de 24 horas colhidos por dois dias. De acordo com esta pesquisa, a média do consumo de Zn entre homens passou de 11,5 mg em 2008-2009 para 10,9 mg em 2017-2018 e sua adequação também foi menor no período mais atual ( $61,0\%$  vs  $66,5\%$  em 2008-09). Mulheres idosas também apresentaram redução de seu consumo de 9,5 mg para 8,6 mg, e o percentual de ingestão adequada diminuiu expressivamente de 77 para 68,6% [8, 37]. É importante salientar a diferença de idade entre os constituintes das amostras dos estudos, já que a redução do consumo energético que ocorre com o avançar da idade pode impactar no consumo de minerais, que, por sua vez, não tem suas demandas concomitantemente reduzidas [38].

Estudo de Venturini et al., 2015 observou redução significativa do consumo de Zn com o avanço da idade (média de  $9,2 \pm 4,6$  mg/dia entre os idosos com 60 a 69 anos;  $8,0 \pm 3,7$  mg/dia entre os de 70 e 79 anos e  $7,5 \pm 2,8$  mg/dia entre os de 80 anos ou mais). Os autores também encontraram

diferença significativa para o consumo de Zn entre os sexos ( $10,2 \pm 4,9$  mg/dia para homens vs  $7,7 \pm 3,2$  mg/dia para mulheres acima de 60 anos) ao mesmo tempo em que o consumo de energia também variou consideravelmente entre os grupos ( $1564,0 \pm 553,9$  para o sexo masculino e  $1330,8 \pm 428,7$  para o sexo feminino) [39].

A deficiência de Zn no plasma (definida como valores menores que 70 ug/dL) [27] atingiu 18,31% dos participantes do presente estudo, sendo mais prevalente a deficiência marginal de Zn. No subgrupo de idosos saudáveis com 80,5 (4,1) anos analisados por Sfar et al. (2009), 65% e 50% apresentaram níveis plasmáticos de Zn inadequados e deficientes, respectivamente. A média de Zn plasmático neste estudo foi de  $70,59 \pm 10,1$  ug/dL [40]. Já o estudo europeu ZincAge, realizado com 853 pessoas entre 60 e 84 anos, aponta que 31% dos participantes apresentavam deficiência marginal de Zn (definida como concentrações plasmáticas de Zn menores que 72 ug/dL) e que o baixo consumo de alimentos fonte deste mineral esteve associada à maiores níveis de deficiência [41]. No entanto, o estudo ZENITH indicou, em uma subamostra de 199 indivíduos com idade entre 70 a 87 anos, um percentual menor de deficiência de Zn, próximo a 6% [33].

Acredita-se que há conjuntamente uma grande mobilização do Zn armazenado transitoriamente nos eritrócitos já que apenas 7,0% de nossa amostra apresentou valores adequados para este biomarcador e uma alta prevalência de baixa excreção deste mineral como tentativa de manter a homeostase plasmática e, conseqüentemente, sua entrega aos tecidos para o exercício de funções primordiais compensando, assim, sua baixa ingestão. No estudo ZENITH, o Zn eritrocitário foi significativamente menor em indivíduos de 70 a 87 anos em comparação àqueles com 55 a 70 anos ( $201,7 \pm 56,7$   $\mu\text{mol/L}$  vs  $222,9 \pm 55,8$   $\mu\text{mol/L}$ ), sendo que este parâmetro não esteve significativamente correlacionado ao Zn plasmático e dietético [33]. Em estudo com indivíduos recém hospitalizados ( $65,3 \pm 16,5$  anos), o Zn eritrocitário estava ligeiramente associado negativamente com o Zn plasmático. Os autores apontam ainda que a concentração de Zn nas células vermelhas é um parâmetro mais estável e, portanto, pode refletir melhor o status de Zn em todo o corpo [42].

Quanto à excreção urinária de Zn, sabe-se que esta é positivamente correlacionada à concentração plasmática de Zn, diminuindo na deficiência de Zn [33,43]. Por este motivo, o percentual de baixa excreção encontrado em nossa amostra foi quase o triplo do percentual de alta excreção, já que a maioria dos participantes apresentou níveis reduzidos de Zn no plasma. Em contrapartida, a excreção urinária de Zn pode se encontrar elevada em idosos [44], possivelmente

devido à uma redução da absorção de Zn, que pode refletir uma necessidade diferenciada deste mineral por estes indivíduos [45]. De fato, o estudo ZENITH encontrou média de  $1,03 \pm 0,81$  mmol/mmol creatinina para Zn na urina entre os participantes de 70 a 87 anos, enquanto entre aqueles com 55 a 70 anos a média foi de  $0.65 \pm 0.30$ . Neste estudo, mais de 90% da amostra total possuía níveis plasmáticos de Zn adequados [33].

Entretanto, no presente estudo, não foram encontradas correlações entre a ingestão de Zn com os respectivos níveis plasmáticos, eritrocitários e urinários deste mineral. Por se tratar de uma população longeva e saudável, é provável que as funções metabólicas do Zn estejam mantidas em função de mecanismos adaptativos eficazes como o deslocamento de Zn eritrocitário e a diminuição do biomarcador urinário. Quando comparados à adultos de meia-idade, idosos apresentam menor concentração eritrocitária de Zn, mas uma maior concentração urinária, o que reforça a hipótese de que o metabolismo do Zn possa ser alterado com o envelhecimento [33].

O Zn, de fato, parece ter um controle endógeno diferenciado, coordenado por seus ligantes temporários como as Zip's, Znt's e metalotioneínas (MTs) pois quando uma ingestão mínima de Zn não é alcançada e a redução das perdas urinárias e fecais são insuficientes para restauração da homeostase de Zn no pool e nos tecidos, ajustes ocorrem para mobilizar o Zn destes pequenos reservatórios, que inclui também o Zn plasmático, que apresenta um rápido *turnover*, e o Zn armazenado em organelas [46,47].

A expressão de MTs, por exemplo, não é exclusivamente impactada pelo baixo consumo de Zn [48, 49] e pela alta incidência de deficiência deste mineral em idosos [40, 50], mas também pode refletir mudanças intracelulares relacionadas ao próprio processo de envelhecimento. Isto porque as MTs, bem como os níveis de mRNAs, são regulados negativamente em idades muito avançadas (> 80 anos) acompanhados de alterações na homeostase do Zn (com redução de Zn lábil intracelular e da secreção de Zn induzida por óxido nítrico), independentemente da ingestão dietética. Estas mudanças ocorrem tanto em células mononucleares do sangue periférico humanas ex vivo quanto em clones de células T CD4 in vitro, mas mais lentamente em nonagenários e centenários com boa capacidade funcional, sugerindo uma possível seleção para sobrevivência. Estes achados sugerem que os fenômenos observados em idosos longevos possam ser, pelo menos parcialmente, atribuídos à diminuição da proliferação celular (mecanismo induzido por MTs) com acúmulo de células senescentes e ao estado inflamatório de baixo grau em idosos [51].

Há uma diferença na eficiência absorptiva de Zn e Cu documentada na literatura. August, Janghorbani e Young (1989) observaram que a absorção de Zn variou de  $21 \pm 1\%$  a  $43 \pm 7\%$  quando indivíduos idosos consumiram uma dieta adequada e deficiente em Zn, respectivamente. Já a absorção de Cu variou de  $53 \pm 2\%$  a  $67 \pm 4\%$  entre o período de dieta adequada e deficiente neste mineral [52]. Ademais, o Zn tem sua absorção até 20% reduzida em idosos possivelmente devido a alterações intestinais, na mastigação e estruturas orais e interações medicamentosas [53]. Esta diferença na absorção, juntamente à discrepância entre os percentuais de adequação para ingestão de Zn e Cu encontrados no presente estudo, pode explicar parcialmente a grande diferença encontrada entre a adequação de seus níveis plasmáticos.

No que tange especificamente ao Cu, estudos como o de Sfar et al. (2009) e Gibson, Martinez e MacDonald (1985) encontraram médias de Cu plasmático próximas à média encontrada no presente estudo, sendo  $128,89 \pm 28,9$  ug/dL e  $122,0 \pm 29,0$  ug/dL, respectivamente [40, 34]. Sfar et al. (2009) apontam, ainda, que a concentração de Cu plasmático parece não ser afetada com o avançar da idade [40].

Foi constatada uma ingestão mediana de 0,78 (0,56-1,1) mg de Cu em nossa amostra, inferior à recomendação de 0,9 mg/dia para indivíduos de ambos os sexos com idade superior a 70 anos [30]. Segundo os dados da POF 2017-2018, para homens com mais de 60 anos de idade, observou-se a ingestão média de Cu de 1,4 mg (valor semelhante ao encontrado em 2008-2009), com um percentual de inadequação de apenas 4,5% - 1,9% menor em relação ao valor encontrado na POF anterior, ambos considerados baixos. Para mulheres acima de 60 anos, a POF de 2017-2018 encontrou uma média de consumo de 1,1 mg (aumento de 100µg com relação à 2008-2009), com 11,9% das participantes tendo consumo inadequado de Cu, enquanto na POF anterior observamos um percentual de inadequação maior, de 15% [8,37]. Em nosso estudo, entretanto, o percentual de inadequação mediano foi de 42,3%, sendo também maior entre mulheres (48,01% vs 30,92%).

Quanto ao Cu urinário, 96,8% da amostra apresentou alta concentração. Pesquisas com Cu urinário são escassas e se debruçam majoritariamente sob condições específicas como a doença de Wilson, quadro em que a intoxicação com o Cu é frequente por acúmulo celular em razão de prejuízo nos controles homeostáticos. Estudos com homens jovens observaram que o Cu urinário não é diretamente associado à ingestão de Cu, exceto em casos de dietas muito restritas ( $< 0,38$  mg/dia). Ademais, a excreção urinária não parece ter um papel central na regulação dos estoques de Cu já que

representa uma pequena parcela da excreção total de Cu [54]. Em algumas condições patológicas, no entanto, o Cu urinário se eleva como um mecanismo compensatório à alteração na excreção biliar [26]. Todavia, este não parece ser o caso em nossa amostra.

Em indivíduos saudáveis, o Cu urinário é provavelmente advindo da dissociação do complexo albumina-Cu do soro durante sua passagem pelo rim. Entretanto, com a diminuição da taxa de filtração glomerular, a ceruloplasmina, proteína de alto peso molecular, também aumenta na urina e pode liberar íons de Cu [55]. Carece de elucidação, contudo, se a queda da taxa de filtração glomerular que ocorre com o envelhecimento (associada ou não à comorbidades) estaria relacionada a este fenômeno [56,57].

Dentre as limitações deste estudo temos que os valores de referência utilizados tanto para os biomarcadores de Cu quanto para os de Zn, bem como as recomendações dietéticas, advém de estudos com populações mais jovens e de outros países já que há uma escassez de dados com populações de octo e nonagenários. Ainda está aberta a discussão sobre qual método ofereceria menor risco de viés na avaliação da ingestão de micronutrientes entre idosos. Apesar da boa capacidade cognitiva de nossa amostra, o preenchimento dos registros de 24h pode se apresentar como uma tarefa complexa. A ingestão de micronutrientes parece se correlacionar melhor com a ingestão de longo prazo, mas não se sabe quantos dias de registro alimentar seriam ideais para representar mais fidedignamente o consumo real. A avaliação dos minerais também não se estende à análise da qualidade do composto mineral ou interações dentro das matrizes alimentares que alterariam a biodisponibilidade destes [58]. Por fim, o tamanho amostral pode configurar uma das limitações, todavia, é fundamental levar em consideração que idosos com idade superior a 80 anos saudáveis constituem uma pequena parcela da população brasileira.

Destaca-se que o presente estudo é pioneiro ao avaliar o perfil de biomarcadores plasmáticos, eritrocitários e urinários de Cu e Zn e sua associação com a ingestão alimentar em uma amostra homogênea de idosos longevos saudáveis no Brasil. Assim, estudar os biomarcadores de Cu e Zn em um modelo de envelhecimento bem-sucedido é fundamental uma vez que vem sendo descrita na literatura uma interação e coordenação diferenciada destes minerais com o avançar da idade, sendo que o aumento de Cu e/ou a diminuição de Zn no plasma, com subsequente aumento da razão Cu/Zn, estariam associados ao aumento do risco de doenças crônicas [59 – 64] e mortalidade em idosos [65-67].

## CONCLUSÃO

Em nosso estudo, observamos que, mesmo no contexto de envelhecimento saudável, há uma alta incidência de deficiência de Zn plasmático e eritrocitário, acompanhada de um alto percentual de inadequação para ingestão e concentração urinária de Zn e Cu. Quanto ao Cu, apesar da completa adequação de níveis plasmáticos e eritrocitários, a alta excreção foi identificada em mais de 95% da amostra. Estes achados demonstram que a senescência possui especificidades que merecem ser melhor elucidadas e não necessariamente demonstram concordância com os atuais valores de referência para biomarcadores e consumo de Zn e Cu em idosos longevos e saudáveis. Contudo, nestes idosos, os biomarcadores de Zn e Cu não foram associados com a ingestão alimentar analisada, demonstrando que as alterações no metabolismo destes minerais extrapolam o componente dietético.

## FINANCIAMENTO

Este trabalho foi apoiado pela Fundação de Amparo à Pesquisa de Minas Gerais (FAPEMIG), Processo APQ-00835-18.

Interesses financeiros: Os autores declaram não ter interesses financeiros.

Interesses não financeiros: nenhum.

## REFERÊNCIAS

- [1] Osredkar J, Sustar N (2011) Copper and Zinc, Biological Role and Significance of Copper/Zinc Imbalance. *J Clin Toxicol* S3:001. doi:10.4172/2161-0494.S3-001.
- [2] Bonaccio M, Di Castelnuovo A, Costanzo S, Gialluisi A, Persichillo M, Cerletti C, et al. (2018) Mediterranean diet and mortality in the elderly: a prospective cohort study and a meta-analysis. *Br J Nutr* 120(8): 841-854. doi: 10.1017/S0007114518002179.
- [3] Soltani S, Jayedi A, Shab-Bidar S, Becerra-Tomás N, Salas-Salvadó J (2019) Adherence to the Mediterranean diet in relation to all-cause mortality: a systematic review and dose-response meta-analysis of prospective cohort studies. *Adv Nutr* 10(6): 1029-1039. doi: 10.1093/advances/nmz041.
- [4] Van Dronkelaar C, van Velzen A, Abdelrazek M, van der Steen A, Weijs PJM, Tieland M (2018) Minerals and Sarcopenia; The Role of Calcium, Iron, Magnesium, Phosphorus, Potassium, Selenium,

Sodium, and Zinc on Muscle Mass, Muscle Strength, and Physical Performance in Older Adults: A Systematic Review. *J Am Med Dir Assoc* 19(1):6-11.e3. doi: 10.1016/j.jamda.2017.05.026

[5] Mocchegiani E, Malavolta M, Marcellini F, Pawelec G (2006) Zinc, oxidative stress, genetic background and immunosenescence: implications for healthy ageing. *Immun Ageing* 3:1-8. doi: 10.1186/1742-4933-3-6.

[6] Uauy R, Olivares M, González M (1998) Essentiality of copper in humans. *Am J Clin Nutr*; 67: 952S-9S. doi: 10.1093/ajcn/67.5.952S.

[7] Malavolta M, Piacenza F, Basso A, Giacconi R, Costarelli L, Mocchegiani E. Serum copper to zinc ratio: Relationship with aging and health status. *Mech Ageing Dev* 2015; 151:93-100.

[8] Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (2020) Pesquisa de Orçamentos Familiares 2017-2018: Análise do consumo alimentar pessoal no Brasil. Rio de Janeiro.

[9] World Health Organization (2022). Ageing and health. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/ageing-and-health>. Accessed 04 January 2023

[10] Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (2017) Projeção da população do Brasil e das Unidades da Federação: IBGE.. [https://www.ibge.gov.br/apps/populacao/projecao/index.html?utm\\_source=portal&utm\\_medium=popclock](https://www.ibge.gov.br/apps/populacao/projecao/index.html?utm_source=portal&utm_medium=popclock). Accessed 26 January 2023

[11] Moraes EN, Lanna FM, Santos RR, Bicalho MAC, Machado CJ, Romero DE. (2016) A new proposal for the clinical-functional categorization of the elderly: visual scale of frailty (VSfrailty). *J Aging Res Clin Practice* 5(1):24-30. doi:10.14283/jarcp.2016.84

[12] Folstein MF, Folstein SE, McHugh PR (1975) "Mini-mental state". A practical method for grading the cognitive state of patients for the clinician. *J Psychiatr Res* 12(3):189- 98. doi: 10.1016/0022-3956(75)90026-6.

[13] Charlson ME, Pompei P, Ales KL, MacKenzie CR. (1987) A new method of classifying prognostic comorbidity in longitudinal studies: development and validation. *J Chronic Dis* 40:373-83. doi: 10.1016/0021-9681(87)90171-8.

- [14] Bertolucci, P. H., Brucki, S., Campacci, S. R., & Juliano, Y. (1994). O mini-exame do estado mental em uma população geral: impacto da escolaridade. *Arquivos de Neuro-psiquiatria*, 52, 01-07.
- [15] Pfeffer RI, Kurosaki TT, Harrah JCH, Chance JM, Filos S (1982) Measurement of functional activities in older adults in the community. *J Gerontol* 37(3): 323-329. doi: 10.1093/geronj/37.3.323.
- [16] World Health Organization (1995) *Physical status: the use and interpretation of anthropometry*. [Internet] Geneva; 452 p.
- [17] Chumlea WC, Roche AF, Steinbaugh ML (1985) Estimating stature from knee height for persons 60 to 90 years of age. *J Am Geriatr Soc* 33:116-20. doi: 10.1111/j.1532-5415.1985.tb02276.x.
- [18] Chumlea WC, Guo S, Roche AF, Steinbaugh ML (1988) Prediction of body weight for the nonambulatory elderly from anthropometry. *J Am Diet Assoc* 88: 564e8.
- [19] Organización Panamericana de la Salud – OPAS (2002) *Encuesta Multicéntrica Salud Bienestar y Envejecimiento (SABE) en América Latina y el Caribe: informe preliminar*. 36ª Reunión del Comité Asesor de Investigaciones en Salud; Kingston. Washington, D.C.
- [20] Thompson FE, Byers T (1994) Dietary assessment resource manual. *J Nutr* 124(11 Suppl):2245S-2317S. doi: 10.1093/jn/124.suppl\_11.2245s.
- [21] Willett WC (1998) *Nutritional epidemiology*. 2 ed. Oxford: Oxford University Press.
- [22] Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. *Pesquisa de orçamentos familiares 2008- 2009: tabela de composição nutricional dos alimentos consumidos no Brasil*. [Internet] Rio de Janeiro: IBGE, 2011. 345 p. [acesso em 02 set 2019]. Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/estatisticas/sociais/populacao/9050-pesquisa-de-orcamentosfamiliares.html?edicao=9063&t=publicacoes>
- [23] Institute of Medicine (2006) *Dietary reference intakes: the essential guide to nutrient requirements*. National Academies Press.

- [24] Whitehouse RC, Prasad AS, Rabbani PI, Cossack ZT (1982) Zinc in plasma, neutrophils, lymphocytes, and erythrocytes as determined by flameless atomic absorption spectrophotometry. *Clin Chem* 28(3):475-80.
- [25] Association of Official Analytical Chemists (2012) Official methods of analysis. Washington, DC, 19<sup>th</sup>ed.
- [26] Gromadzka G, Grycan M, Przybyłowski AM (2023) Monitoring of Copper in Wilson Disease. *Diagnostics*, 13(11), 1830. doi: 10.3390/diagnostics13111830.
- [27] Vitoux D, Arnaud J, Chappuis P (1999) Are copper, zinc and selenium in erythrocytes valuable biological indexes of nutrition and pathology? *J Trace Elem Med Biol* 13(3):113- 28. doi: 10.1016/S0946-672X(99)80001-7.
- [28] Gow PJ, Smallwood RA, Angus PW, Smith AL, Wall AJ, Sewell RB (2000) Diagnosis of Wilson's disease: an experience over three decades. *Gut* 46(3): 415-419. doi: 10.1136/gut.46.3.415.
- [29] Gibson RS (2005). Principles of nutrition assessment. Oxford University Press.
- [30] Institute of Medicine (2001). Dietary reference intakes for vitamin A, vitamin K, arsenic, boron, chromium, copper, iodine, iron, manganese, molybdenum, nickel, silicon, vanadium, and zinc. Washington (DC): The National Academies Press.
- [31] Artacho R, Ruiz-Lopez MD, Gamez C, Puerta A, Lopez MC (1997) Serum concentration and dietary intake of Zn in healthy institutionalized elderly subjects. *Sci Total Environ* 205(2-3): 159-165. doi: 10.1016/s0048-9697(97)00196-4.
- [32] Swanson CA, Mansourian R, Dirren H, Rapin CH (1988) Zinc status of healthy elderly adults: response to supplementation. *Am J Clin Nutr* 48(2): 343-349. doi: 10.1093/ajcn/48.2.343.
- [33] Andriollo-Sanchez M, Hininger-Favier I, Meunier N, Toti E, Zaccaria M, Brandolini-Bunlon M, et al. (2005) Zinc intake and status in middle-aged and older European subjects: the ZENITH study. *Eur J Clin Nutr* 59(2): S37-S41. doi: 10.1038/sj.ejcn.1602296.

- [34] Gibson RS, Martinez OB, MacDonald AC (1985) The zinc, copper, and selenium status of a selected sample of Canadian elderly women. *J Gerontol* 40(3), 296-302. doi: 10.1093/geronj/40.3.296.
- [35] Waern RV, Cumming RG, Blyth F, Naganathan V, Allman-Farinelli M, Le Couteur D, et al. (2015) Adequacy of nutritional intake among older men living in Sydney, Australia: findings from the Concord Health and Ageing in Men Project (CHAMP). *Brit J Nutr* 114(5), 812-821. doi: 10.1017/S0007114515002421.
- [36] Castiglione D, Platania A, Conti A, Falla M, D'Urso M, Marranzano M. (2018) Dietary Micronutrient and Mineral Intake in the Mediterranean Healthy Eating, Ageing, and Lifestyle (MEAL) Study. *Antioxidants* 23;7(7):79. doi: 10.3390/antiox7070079.
- [37] Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (2011) Pesquisa de orçamentos familiares 2008-2009: análise do consumo alimentar pessoal no Brasil. IBGE, Coordenação de Trabalho e Rendimento. Rio de Janeiro.
- [38] Institute of Medicine (IOM) (2000) Dietary Reference Intakes: applications in dietary assessment. Washington (DC) 306 p.
- [39] Venturini CD, Engroff P, Sgnaolin V, El Kik RM, Morrone FB, Da Silva Filho IG, et al. (2015) Consumo de nutrientes em idosos residentes em Porto Alegre (RS), Brasil: um estudo de base populacional. *Ciênc Saúde Coletiva* 20(12):3701-1. doi: 10.1590/1413-812320152012.01432015.
- [40] Sfar S, Jawed A, Braham H, Amor S, Laporte F, Kerkeni A (2009) Zinc, copper and antioxidant enzyme activities in healthy elderly Tunisian subjects. *Exp Gerontol* 44(12): 812-817. doi: 10.1016/j.exger.2009.10.008.
- [41] Marcellini F, Giuli C, Papa R, Gagliardi C, Dedoussis G, Herbein G, et al. (2006) Zinc status, psychological and nutritional assessment in old people recruited in five European countries: Zincage study. *Biogerontology*, 7, 339-345. doi: 10.1007/s10522-006-9048-4.
- [42] Rodic S, McCudden C, van Walraven C (2022) Relationship between plasma zinc and red blood cell zinc levels in hospitalized patients. *J Appl Lab Med* 7(6), 1412-1423. doi: 10.1093/jalm/jfac079.

- [43] Sandstead HH, Au W (2007) Zinc. In: Nordberg GF, Fowler BA, Nordberg M, Friberg L. *Handbook of the Toxicology of Metals*. 3 ed. Academic Press 925-947.
- [44] Hambidge KM, Miller LV, Westcott JE, Krebs NF (2008) Dietary reference intakes for zinc may require adjustment for phytate intake based upon model predictions. *J Nutr* 138(12), 2363-2366. doi: 10.3945/jn.108.093823.
- [45] Wastney ME, Ahmed S, Henkin RI (1992) Changes in regulation of human zinc metabolism with age. *Am J Physiol* 263: R1162–R1168. doi: 10.1152/ajpregu.1992.263.5.R1162.
- [46] King JC (2011) Zinc: an essential but elusive nutrient. *Am J Clin Nutr* 94(2):679S-84S. doi:10.3945/ajcn.110.005744.
- [47] Kambe T, Tsuji T, Hashimoto A, Itsumura N (2015) The physiological, biochemical, and molecular roles of zinc transporters in zinc homeostasis and metabolism. *Physiol Rev*. doi: 10.1152/physrev.00035.2014.
- [48] Allan AK, Hawksworth GM, Woodhouse LR, Sutherland B, King JC, Beattie JH (2000) Lymphocyte metallothionein mRNA responds to marginal zinc intake in human volunteers. *Br J Nutr* 84:747–756.
- [49] Coyle P, Philcox JC, Carey LC, Rofe AM (2002) Metallothionein: the multipurpose protein. *Cell Mol Life Sci* 59:627–47. doi: 10.1007/s00018-002-8454-2.
- [50] Mariani E, Cornacchiola V, Polidori MC, Mangialasche F, Malavolta M, Cecchetti R, et al. (2006) Antioxidant enzyme activities in healthy old subjects: influence of age, gender and zinc status: results from the Zincage Project. *Biogerontology*, 7, 391-398. doi: 10.1007/s10522-006-9054-6.
- [51] Malavolta M, Cipriano C, Costarelli L, Giacconi R, Tesi S, Muti E, et al. (2008) Metallothionein downregulation in very old age: a phenomenon associated with cellular senescence? *Rejuven Res* 11(2): 455-459. doi: 10.1089/rej.2008.0679.
- [52] August D, Janghorbani M, Young VR (1989) Determination of zinc and copper absorption at three dietary Zn-Cu ratios by using stable isotope methods in young adult and elderly subjects. *Am J Clin Nutr* 50(6): 1457-1463. doi: 10.1093/ajcn/50.6.1457.

- [53] Mocchegiani E, Romeo J, Malavolta M, Costarelli L, Giacconi R, Diaz LE, Marcos A (2013) Zinc: dietary intake and impact of supplementation on immune function in elderly. *Age*, 35 (3): 839-860. doi: 10.1007/s11357-011-9377-3.
- [54] Turnlund JR, Scott KC, Peiffer GL, Jang AM, Keen CL, Sakanashi TM (1997) Copper status of young men consuming a low copper diet. *Am J Clin Nutr* 65:72–8. doi: 10.1093/ajcn/65.1.72.
- [55] Ito S, Fujita H, Narita T, Yaginuma T, Kawarada Y, Kawagoe M, Sugiyama T (2001) Urinary copper excretion in type 2 diabetic patients with nephropathy. *Nephron*, 88(4): 307-312. doi: 10.1159/000046013.
- [56] Sun X, Chen Y, Chen X, Wang J, Xi C, Lin S, Liu X (2009) Change of glomerular filtration rate in healthy adults with aging. *Nephrology* 14(5): 506-513. doi: 10.1111/j.1440-1797.2009.01098.x.
- [57] Abdulkader RC, Burdmann EA, Lebrao ML, Duarte YA, Zanetta DM (2017) Aging and decreased glomerular filtration rate: An elderly population-based study. *PLoS One* 12(12): e0189935. doi: 10.1371/journal.pone.0189935.
- [58] Ortiz-Andrellucchi A, Sánchez-Villegas A, Doreste-Alonso J, de Vries J, de Groot L, Serra-Majem, L. (2009) Dietary assessment methods for micronutrient intake in elderly people: a systematic review. *Brit J Nutr*, 102(S1): S118-S149. doi: 10.1017/S0007114509993175.
- [59] Kazi Tani LS, Gourlan AT, Dennouni-Medjati N, Telouk P, Dali-Sahri M, Harek Y, et al. (2021) Copper isotopes and copper to zinc ratio as possible biomarkers for thyroid cancer. *Front Med*, 8: 698167. doi: 10.3389/fmed.2021.698167.
- [60] Takao T, Yanagisawa H, Suka M, Yoshida Y, Onishi Y, Tahara T, et al. (2022) Synergistic association of the copper/zinc ratio under inflammatory conditions with diabetic kidney disease in patients with type 2 diabetes: The Asahi Diabetes Complications Study. *J Diabetes Investig* 13(2): 299-307. doi: 10.1111/jdi.13659.
- [61] Zhang L, Shao J, Tan SW, Ye HP, Shan XY (2022) Association between serum copper/zinc ratio and lung cancer: A systematic review with meta-analysis. *J Trace Elem Med Biol* 127061. doi: 10.1016/j.jtemb.2022.127061.

- [62] Kunutsor SK, Voutilainen A, Kurl S, Laukkanen JA (2022). Serum copper-to-zinc ratio is associated with heart failure and improves risk prediction in middle-aged and older Caucasian men: A prospective study. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*, 32(8): 1924-1935. doi: 10.1016/j.numecd.2022.05.005.
- [63] Kunutsor SK, Voutilainen A, Laukkanen JA (2023) Serum Copper-to-Zinc Ratio and Risk of Chronic Obstructive Pulmonary Disease: A Cohort Study. *Lung*, 201(1), 79-84. doi: 10.1007/s00408-022-00591-6.
- [64] Bengtsson Y, Demircan K, Vallon-Christersson J, Malmberg M, Saal LH, Rydén L, et al. (2023) Serum copper, zinc and copper/zinc ratio in relation to survival after breast cancer diagnosis: A prospective multicenter cohort study. *Redox Biol*, 63: 102728. doi: 10.1016/j.redox.2023.102728.
- [65] Leone N, Courbon D, Ducimetiere P, Zureik M (2006) Zinc, copper, and magnesium and risks for all-cause, cancer, and cardiovascular mortality. *Epidemiology* 308-314. doi: 10.1097/01.ede.0000209454.41466.b7.
- [66] Malavolta M, Giacconi R, Piacenza F, Santarelli L, Cipriano C, Costarelli L, et al. (2010) Plasma copper/zinc ratio: an inflammatory/nutritional biomarker as predictor of all-cause mortality in elderly population. *Biogerontology* 11:309-319. doi: 10.1007/s10522-009-9251-1.
- [67] Mocchegiani E, Malavolta M, Lattanzio F, Piacenza F, Basso A, Abbatecola AM (2012) Cu to Zn ratio, physical function, disability, and mortality risk in older elderly (ilSIRENTE study). *Age* 34: 539-552. doi: 10.1007/s11357-011-9252-2.

## ARTIGO 2

## 5.1.2 Razão cobre/zinco elevada e baixo ângulo de fase em idosos longevos com envelhecimento saudável

**RESUMO**

**Objetivo:** Determinar a relação entre a razão cobre/zinco (RCZ) e indicadores de qualidade muscular e de composição corporal em pessoas idosas longevas com envelhecimento saudável. **Métodos:** Estudo transversal com idosos de 80 anos ou mais com envelhecimento saudável. A composição corporal foi avaliada por antropometria e bioimpedância e o consumo alimentar por 3 registros alimentares não consecutivos. O Short Physical Performance Battery (SPPB), a força de preensão palmar (FPP), a massa magra apendicular (MMA) e o ângulo de fase (AF) foram aferidos. Cu e Zn plasmáticos foram analisados por espectrometria de emissão óptica e a RCZ foi calculada. Estratificamos a RCZ em quartis. Análises de regressão foram realizadas. **Resultados:** Incluídos 71 idosos saudáveis, com 84 (82-87) anos. 42,3% e 53,4% apresentaram inadequação para consumo de Cu e Zn, respectivamente. Nenhuma variável dietética ou antropométrica esteve associada à RCZ. O percentual de adequação para Cu e Zn plasmático foi de 100% e 43,7%, respectivamente. A RCZ média foi de 1,51 ( $\pm$  0,16), sem diferença entre sexos. 76% apresentaram bom desempenho no SPPB e 82,1% FPP adequada, mas ambos não estiveram associados à RCZ. Associação inversa foi encontrada entre o 4º quartil de RCZ ( $>1,63$ ) e o AF ( $p = 0,026$ ), corroborada pela análise de regressão mesmo quando ajustada para idade (RP = 0,62; IC 95% 0,47 – 0,81;  $p = 0,001$ ). **Conclusão:** Observamos uma associação inversa entre RCZ e AF, indicador de integridade celular relacionado à fragilidade e mortalidade em idosos.

**Palavras-chave:** Idoso de 80 anos ou mais. Envelhecimento saudável. Minerais. Cobre. Zinco. Composição corporal. Ângulo de fase.

## ABSTRACT

**Objective:** To study the relationship between the copper/zinc ratio (CZR) and indicators of muscle quality and body composition in healthy longevous elderly people. **Methods:** Cross-sectional study with elderly people aged 80 or over with healthy aging. Body composition was assessed by anthropometry and bioimpedance and food consumption by 3 non-consecutive food records. The Short Physical Performance Battery (SPPB), handgrip strength, lean appendicular mass and phase angle (PA) were measured. Plasma Cu and Zn were analyzed by optical emission spectrometry and CZR was calculated. We stratified the CZR into quartiles. Regression analyzes were performed. **Results:** 71 healthy elderly people were included, aged 84 (82-87). 42.3% and 53.4% had inadequate Cu and Zn consumption, respectively. No dietary or anthropometric variables were associated with CZR. The percentage of adequacy for plasma Cu and Zn was 100% and 43.7%, respectively. The mean CZR was 1.51 ( $\pm$  0.16), with no difference between sex. 76% performed well on the SPPB and 82.1% had an adequate handgrip strength, but both were not associated with CZR. Inverse association was found between the 4th quartile of CZR ( $>1.63$ ) and PA ( $p = 0.026$ ), corroborated by regression analysis even when adjusted for age (PR = 0.62; 95% CI 0.47 – 0.81;  $p = 0.001$ ). **Conclusion:** We observed an inverse association between CZR and PA, an indicator of cellular integrity related to frailty and mortality in the elderly.

**Keywords:** Aged 80 or over. Healthy aging. Minerals. Copper. Zinc. Body composition. Phase angle.

## INTRODUÇÃO

Os aspectos nutricionais que parcialmente contribuem para aumento do risco de perda funcional e morbimortalidade podem ser modificados mesmo em idosos longevos [1]. Neste cenário, alterações dos níveis plasmáticos de Cu e Zn, micronutrientes que exercem funções biológicas amplas e fundamentais, bem como alterações em sua ingestão, podem levar a um comprometimento da função de órgãos [2] e aumento do risco de piora do desempenho físico e fragilidade [3 – 5].

Isto ocorre porque estes minerais estão intrinsecamente relacionados à capacidade oxidativa. Nesse contexto, os antioxidantes podem prevenir a degeneração muscular através da eliminação dos radicais hidroxila e da redução da peroxidação lipídica [6]. Estes fatores estão associados ao envelhecimento por aumento do dano oxidativo ao DNA, lipídeos e proteínas do músculo esquelético de idosos [7]. O estresse oxidativo pode, então, impactar negativamente indicadores de qualidade muscular [8, 9].

A razão Cobre/Zinco (RCZ) tem sido estudada no contexto do envelhecimento e associações bem estabelecidas entre o aumento desta razão e aumento do risco de doenças crônicas e mortalidade foram observadas [10, 11]. Esta razão já foi associada também ao aumento do risco de declínio funcional em idosos. Esta associação é possivelmente decorrente de sua relação com parâmetros inflamatórios [12] já que estes ocasionam a compartimentalização de Cu e Zn no organismo. O aumento da RCZ caracteriza uma tentativa furtiva de melhoria da resistência ao estresse oxidativo e às infecções [10]. Contraditoriamente, a elevação da RCZ culmina em aumento da carga oxidativa sistêmica [13] e de marcadores inflamatórios [11] que, por sua vez, já foram associados à sarcopenia [14]. Mediadores inflamatórios já foram relacionados também à alterações na composição corporal, nas propriedades do músculo esquelético relacionadas à idade e na força máxima muscular [15].

Portanto, em um cenário de transição demográfica com aumento expressivo de pessoas idosas [16, 17], determinar a associação entre RCZ e indicadores de qualidade e quantidade muscular e consumo alimentar pode ajudar não somente a elucidar melhor o papel dos minerais no envelhecimento saudável, mas a prevenir e tratar distúrbios musculares da população idosa. Ademais, a RCZ pode representar, no futuro, um biomarcador para mudanças provocadas pelo envelhecimento ao indicar a presença de falha homeostática [10] que pode levar à prejuízo da saúde muscular mesmo

na ausência de doenças e fragilidade, processo que pode ser deflagrado a partir do uso do ângulo de fase como indicador de qualidade muscular.

## MATERIAIS E MÉTODOS

### Desenho do estudo

Trata-se de um estudo transversal observacional, que abrangeu dados da linha de base de um estudo de coorte aberta, prospectivo e analítico, cuja amostra é de idosos longevos atendidos no Ambulatório de Atenção Multiprofissional ao Idoso Robusto e em Risco de Fragilização, do Serviço de Geriatria e Gerontologia do Instituto Jenny de Andrade Faria do Hospital das Clínicas (HC) da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG) e voluntários externos alcançados através da divulgação da pesquisa.

A pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG, com número de Certificado de apresentação e apreciação ética 85566218.0.0000.5149. Os dados foram coletados de dezembro de 2018 a maio de 2023, sendo o período de março de 2020 até agosto de 2021 interrompido em razão da pandemia de Covid-19.

### Participantes

A amostra incluiu todos os idosos vinculados ao serviço ou voluntários que atenderam aos critérios de elegibilidade: idosos com idade superior ou igual a 80 anos com envelhecimento saudável que concordaram em participar da pesquisa, assinando o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE). O envelhecimento saudável foi definido a partir da aplicação da Escala Visioanalógica de Fragilidade [18], que aborda o grau de vitalidade e de fragilidade entre dez categorias clínico-funcionais. Neste contexto, idosos frágeis já passam a apresentar algum nível de declínio funcional nas atividades de vida diária instrumentais. Portanto, idosos octogenários e nonagenários com funcionalidade preservada e os centenários, ainda que em risco de fragilização, também compuseram nossa amostra.

Os critérios de não inclusão foram: idosos frágeis, institucionalizados, sarcopênicos, diabéticos, em uso de digitálicos, furosemida e ácido valpróico e/ou aqueles que ingeriam diariamente bebida alcoólica. Idosos que desistiram da participação na pesquisa em qualquer momento e aqueles

onde ocorreu perda ou impossibilidade da análise dos biomarcadores plasmáticos de Cu ou Zn foram excluídos.

#### Coleta e medição das variáveis de interesse

A característica da população foi analisada por meio de informações de idade, sexo, anos de escolaridade, renda per capita, número de comorbidades, uso e número de fármacos, capacidade cognitiva, por meio do Mini Exame do Estado Mental (MEEM) [19], tempo diário total sentado ou deitado, duração e frequência da prática de atividade e exercício físico. O ponto de corte adotado para o teste MEEM foi de  $\leq 24$  pontos para inadequação (passando para  $\leq 17$  pontos nos casos em que o tempo de escolaridade for menor que 4 anos) [20]. O Questionário de Atividades Funcionais de Pfeffer também foi aplicado e o ponto de corte adotado foi  $\geq 9$  pontos [21].

Os dados antropométricos aferidos foram peso, estatura, altura de joelho (AJ), perímetro da panturrilha (PP) e da cintura (PC), seguindo as técnicas da Organização Mundial de Saúde [22]. Diante da dificuldade encontrada por centenários em alcançar ou se manter em posição adequada para aferição do peso e da estatura, estimamos estas medidas utilizando as equações propostas por Chumlea et al. 1985; 1988 [23, 24] que englobam idosos longevos, mas não são específicas para esta população.

O Índice de Massa Corporal (IMC) foi utilizado para a classificação do estado nutricional, sendo calculado a partir da divisão do peso, em quilogramas (kg), pela estatura, em metros (m), elevada ao quadrado. O IMC menor ou igual à  $23 \text{ kg/m}^2$  estratificou o baixo peso enquanto indivíduos eutróficos tem IMC maior que 23 e menor que  $28 \text{ kg/m}^2$ ; os com excesso de peso apresentam IMC superior ou igual à  $28 \text{ kg/m}^2$  e os com obesidade possuem este índice maior ou igual à  $30 \text{ kg/m}^2$ , segundo a classificação proposta pela Organização Panamericana da Saúde, 2002 [25]. O PP, por sua vez, foi classificado de acordo com o ponto de corte de  $\leq 34$  cm para homens e de  $\leq 33$  cm para mulheres [26].

Para a realização da bioimpedância elétrica utilizou-se o aparelho da marca Biodynamics modelo 310 (Byodynamics Corporation®, Estados Unidos) que emite uma corrente elétrica de  $800 \mu\text{A}$  de intensidade e  $50 \text{ kHz}$  de frequência. O teste foi realizado após um jejum de 8 horas. O protocolo de realização da bioimpedância consistiu na fixação dos eletrodos em pontos anatômicos específicos com o participante em decúbito dorsal. Na superfície dorsal do pé direito, o eletrodo distal foi

colocado na base do dedo médio e o eletrodo proximal um pouco acima da linha da articulação do tornozelo, entre os maléolos medial e lateral. Na superfície dorsal da mão direita, o eletrodo distal foi posicionado na base do dedo médio e o eletrodo proximal um pouco acima da linha da articulação do punho, coincidindo com o processo estilóide.

Os dados de resistência e reactância foram aplicados no cálculo do ângulo de fase (AF), de acordo com a equação proposta por Baumgartner, Chumlea & Roche (1988) [27]. A massa magra apendicular (MMA) foi calculada a partir da fórmula proposta por Peniche, Giorguli & Aleman-Mateo (2015) [28]. Salienta-se que a bioimpedância não foi realizada nos participantes portadores de dispositivos metálicos, como marcapasso, pinos ou placas.

A qualidade muscular foi examinada por meio da força máxima de preensão palmar e da realização do teste SPPB (*Short Physical Performance Balance*). A força máxima de preensão palmar foi aferida a partir de dinamômetro manual Jamar<sup>®</sup> (BL5001, Lafayette, Indiana, EUA) com três medidas de cada lado e utilizando, por fim, a medida de maior valor. A força foi considerada adequada quando maior que 27 e 16 kg para homens e mulheres, respectivamente [29]. O SPPB inclui a avaliação do equilíbrio estático, da força muscular dos membros inferiores e da velocidade de marcha. Considerou-se bom desempenho no teste quando o idoso apresentou escore entre 10 e 12 pontos; moderado desempenho se o escore estivesse entre 7 e 9 pontos; baixo desempenho se o escore estivesse entre 4 e 6 pontos e incapacidade ou desempenho muito ruim foi constatado com escores menores que 4 [30, 31, 32].

A avaliação do consumo alimentar foi executada por registro alimentar de 3 dias não consecutivos, sendo um do final de semana [33, 34]. O preenchimento detalhado dos alimentos ingeridos ao decorrer do dia, com suas respectivas quantidades, seja em medida caseira, unidade, volume ou gramatura foi orientado aos participantes e/ou acompanhantes. Dados adicionais relativos ao consumo temporal de óleo, sal e água também foram coletados para cálculo do per capita destes ingredientes. O uso de suplementos nutricionais também foi questionado para posterior adição ao cálculo final de macro e micronutrientes.

A composição de calorias, proteínas e de minerais foi calculada segundo metodologia proposta pelo IBGE, no programa “Brasil Nutri” 2ª edição, considerando-se a média dos dias de registro alimentar. A ingestão diária calórica e proteica foi adequada pelo peso corporal em kg. A

probabilidade de adequação do consumo de minerais foi obtida pela fórmula:  $Z = \frac{\text{Média da ingestão} - \text{EAR}}{[\text{Vinter} + (\text{Vintra}/n)]^{1/2}}$ , onde: Z= Escore Z; EAR= necessidade média estimada; Vinter: variância interpessoal; Vintra: variância intrapessoal; n: número de dias de registro alimentar. Os valores de variâncias inter e intrapessoal utilizados foram aqueles propostos pelo IOM (2006). O escore-Z encontrado foi em seguida convertido na tabela de valores Z estabelecendo-se, então, a probabilidade de adequação dietética [35].

Os biomarcadores plasmáticos de Cu e Zn foram avaliados através da coleta de 11 ml de sangue venoso em tubos a vácuo com citrato de sódio, realizada em jejum mínimo de 12 horas. O plasma foi separado por centrifugação (CIENTEC® 4K15, São Paulo, Brasil) a 1831 x a força centrífuga (G) durante 15 minutos a 4 °C. Posteriormente, disposto em microtubos de polipropileno, previamente desmineralizados e enxaguados em água deionizada, no mínimo 10 vezes, secos em estufa e acondicionados embalados até o período da utilização.

A análise de Cu e Zn foi realizada em um espectrômetro de plasma indutivamente acoplado - Espectrometria de Emissão Óptica 720-ICP-OES – Varian Inc. Califórnia – EUA), com nebulizador V-Groove e configuração de vista axial no laboratório de Espectroscopia de Emissão Atômica da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária Sete Lagoas - Instrumentação Analítica, segundo metodologia proposta pela Association of Analytical Chemists [34]. As amostras foram lidas em triplicata nos comprimentos de onda 213,856 nm para o Zn e 324,760 nm para o Cu. Amostras de material de referência certificado, Seronorm TM Oligoelement Serum L1 e L-2 (Billingstad, Noruega) foram determinadas para controle de qualidade analítico do ICP-OES.

Em relação à RCZ, sabe-se que, em indivíduos jovens saudáveis, espera-se valor próximo a 1, no entanto, não há valores de referência para idosos longevos com envelhecimento saudável.

#### Análises estatísticas

Quanto às análises estatísticas, a normalidade das variáveis foi avaliada pelo teste de Kolmogorov-Smirnov. As de distribuição normal foram descritas em médias e desvio-padrão, as de distribuição não-normal em medianas, intervalo interquartil (IIQ) e as variáveis categóricas foram descritas em números absolutos e percentuais. A amostra foi dicotomizada por quartil de RCZ, agrupando-se os três primeiros e separando o quartil 4 ( $P75 > 1,63$ ), para análise da associação da RCZ com as variáveis explicativas. Esta associação foi realizada pelo teste de Qui-quadrado de

Pearson ou Exato de Fisher de acordo com a proporção de frequências esperadas menores que 5. Teste t de Student foi realizado para amostras independentes ou Teste Mann-Whitney para variáveis numéricas com distribuição normal e não normal, respectivamente. O programa Statistical Package for the Social Sciences (SPSS versão 19.0) foi utilizado para analisar os dados, concebendo significância para valores de  $p < 0,05$ .

A análise multivariada foi efetuada a partir de modelos de regressão de Poisson com variância robusta tendo como variável dependente a RCZ classificada em quartis e dicotomizada nos três primeiros e último quartil. Como variáveis explicativas, tivemos as variáveis predictoras que obtiveram valor p inferior a 20%, ( $p < 0,20$ ) na análise bivariada. Estas variáveis foram inseridas pelo método backward sendo que aquelas com maior significância (maior valor p) foram retiradas uma a uma do modelo. O procedimento foi repetido até que todas as variáveis presentes no modelo possuíssem significância estatística ( $p < 0,05$ ). Dois modelos foram gerados, o primeiro sem ajuste e o segundo ajustado por idade.

Utilizou se para verificação do ajuste do modelo final, o teste de Hosmer Lemeshow. A razão de prevalência (RP) com intervalo de confiança de 95% (IC 95) foi utilizada como medida de efeito. Os dados obtidos foram analisados com auxílio do software Stata versão 12.0. Para todas as análises, foi adotado o valor de significância de 5%.

## RESULTADOS

A amostra do estudo foi composta por 71 idosos com mediana de idade de 84 (82-87) anos, sendo 54,9% do sexo feminino e 77,5% octogenários. Destaca-se a baixa mediana de comorbidades 2 (1-3) e de número de fármacos 2 (2-4) e elevada adequação (97,1%) para a classificação por MEEM.

Tabela 1 – Características da população estudada

| <b>Variáveis</b>                 | <b>N</b> | <b>Total</b> |
|----------------------------------|----------|--------------|
| Idade <sup>a</sup>               | 71       | 84 (82-87)   |
| Sexo <sup>b</sup>                | 71       |              |
| Masculino                        |          | 32 (45,1%)   |
| Feminino                         |          | 39 (54,9%)   |
| Escolaridade (anos) <sup>a</sup> | 71       | 4 (2-8)      |

|  |    |                      |
|--|----|----------------------|
| Renda per capita (dólares) <sup>a</sup>          | 71 | 240,6 (199,1 -548,3) |
| Pontuação MEEM <sup>a</sup>                      | 64 | 26 (23-28)           |
| Classificação MEEM <sup>b</sup>                  | 64 |                      |
| Adequado   |    | 55 (85,9%)           |
| Classificação QAF                                | 68 |                      |
| Adequado   |    | 68 (100%)            |
| Número de comorbidades <sup>a</sup>              | 67 | 2 (1-3)              |
| Uso de fármacos <sup>b</sup>                     | 70 |                      |
| Sim  |    | 66 (94,3%)           |
| Número de fármacos <sup>a</sup>                  | 70 | 2 (2-4)              |
| Pratica atividade física <sup>b</sup>            | 69 |                      |
| Sim  |    | 63 (91,3%)           |
| Pratica exercício físico <sup>b</sup>            | 69 |                      |
| Sim  |    | 37 (53,6%)           |
| Tempo diário sentado ou deitado (h) <sup>a</sup> | 68 | 4,0 (2,0 – 5,0)      |

MEEM: Mini exame do estado mental; h: horas. QAF: Questionário de Atividades Funcionais de Pfeffer. Atividade física: movimentos corporais com gasto energético, como serviços domésticos, jardinagem, locomoção, entre outros. Exercício físico: ação planejada com o intuito de manter ou alcançar determinado estado físico e de saúde, como musculação, caminhada, entre outros.

<sup>a</sup> Mediana (IIQ)

<sup>b</sup> Número absoluto e percentual

Foram perdidos dados relativos ao SPPB (n = 6) e força de preensão palmar (n = 4), já que alguns participantes não quiseram ou puderam realizá-los. Dados de recordatório de 24 horas (n = 3) também foram perdidos em decorrência da perda de comunicação para conferência de medidas caseiras, bem como dados de aferição dos perímetros de cintura e panturrilha (n = 1) devido à dificuldade de aferição ou à manifestação de não interesse. Dados de bioimpedância perdidos (n = 7) estão atrelados à presença de dispositivos metálicos que alterariam a leitura realizada pelo equipamento.

Encontramos um percentual de adequação de 43,7% para os níveis de Zn plasmático, com média de 74,55 ( $\pm$  4,49)  $\mu$ g/dl. A média para os níveis plasmáticos de Cu foram 112,06 ( $\pm$  8,12)  $\mu$ g/dl, estando esta concentração adequada em todos os participantes (dados não apresentados). A média encontrada para a RCZ foi de 1,51 ( $\pm$  0,16), sem diferença estatisticamente significativa entre os sexos. Com relação ao consumo destes minerais, a mediana para Zn (mg) e Cu (mg) foi de 7,73 (5,91-

10,11) e 0,78 (0,56-1,1), respectivamente. Quanto ao percentual de adequação de consumo de Cu e Zn, encontramos uma mediana de 57,73 % (36,13-79,74) e 46,61 % (31,74-66,36), respectivamente.

Ao dicotomizar a amostra de acordo com o quartil para RCZ, observamos que indivíduos com RCZ maior que 1,63 (quartil 4), apresentaram menor AF, sendo as diferenças encontradas estatisticamente significativas, enquanto para os indicadores de qualidade muscular e de consumo alimentar essa diferença não foi encontrada ( $p > 0,05$ ) (Tabela 2).

Tabela 2 – Dados antropométricos, de bioimpedância, de funcionalidade e de consumo alimentar segundo os quartis para RCZ nos idosos longevos estudados

| Variáveis                             | n  | Total                 | RCZ                         |                       | Valor p            |
|---------------------------------------|----|-----------------------|-----------------------------|-----------------------|--------------------|
|                                       |    |                       | Quartis 1, 2, 3<br>(n = 53) | Quartil 4<br>(n = 18) |                    |
| Idade (anos) <sup>a</sup>             | 71 | 84 (82 – 87)          | 84 (81,5 – 87)              | 85 (82 – 92,2)        | 0,270*             |
| Sexo <sup>b</sup>                     | 71 |                       |                             |                       | 0,083 <sup>‡</sup> |
| Masculino                             |    | 32 (45,07%)           | 27 (84,37%)                 | 5 (15,63%)            |                    |
| Feminino                              |    | 39 (54,93%)           | 26 (66,67%)                 | 13 (33,33%)           |                    |
| IMC (kg/m <sup>2</sup> ) <sup>a</sup> | 71 | 25,56 (23,36 – 28,59) | 25,89 (23,39 - 28,69)       | 25,18 (22,92 - 27,49) | 0,509*             |
| PC (cm) <sup>c</sup>                  | 70 | 92,50 (± 11,53)       | 92,92 (± 11,75)             | 91,29 (± 11,12)       | 0,455 <sup>†</sup> |
| Classificação PC <sup>b</sup>         | 70 |                       |                             |                       | 0,178 <sup>‡</sup> |
| Gordura visceral elevada              |    | 50 (71,43%)           | 35 (67,31%)                 | 15 (83,33%)           |                    |
| PP (cm) <sup>c</sup>                  | 70 | 35,01 (± 3,02)        | 35,13 (± 3,05)              | 34,64 (± 2,99)        | 0,725 <sup>†</sup> |
| Classificação PP <sup>b</sup>         | 70 |                       |                             |                       | 0,246 <sup>‡</sup> |
| Adequada                              |    | 66 (94,29%)           | 51 (96,23%)                 | 15 (88,23%)           |                    |
| MMA (kg) <sup>a</sup>                 | 64 | 14,30 (12,58 – 18,38) | 15,19 (12,90 - 18,38)       | 13,35 (11,71 - 18,30) | 0,133*             |
| AF <sup>a</sup>                       | 64 | 5,30 (4,72 – 6,02)    | 5,56 (4,81 – 6,24)          | 4,78 (4,26 - 5,59)    | 0,026*             |
| Classificação AF <sup>b</sup>         | 64 |                       |                             |                       | 0,487 <sup>‡</sup> |
| Adequado                              |    | 14 (21,87%)           | 12 (25,0%)                  | 2 (12,5%)             |                    |
| Classificação SPPB <sup>b</sup>       | 65 |                       |                             |                       | 0,187 <sup>‡</sup> |
| Bom desempenho                        |    | 50 (76,92%)           | 35 (74,47%)                 | 15 (83,33%)           |                    |
| Moderado desempenho                   |    | 12 (18,46%)           | 10 (21,28%)                 | 2 (11,11%)            |                    |
| Baixo desempenho                      |    | 2 (3,08%)             | 2 (4,25%)                   | 0                     |                    |
| Muito baixo desempenho                |    | 1 (1,54%)             | 0                           | 1 (5,55%)             |                    |

|                                   |    |                       |                       |                       |                    |
|-----------------------------------|----|-----------------------|-----------------------|-----------------------|--------------------|
| FPPmáx <sup>a</sup>               | 67 | 23,00 (18,00- 30,00)  | 24,00 (19,50- 32,00)  | 22,00 (18,0- 26,50)   | 0,148*             |
| Classificação FPPmáx <sup>b</sup> | 67 |                       |                       |                       | 1,000 <sup>£</sup> |
| Adequada                          |    | 55 (82,09%)           | 40 (81,63%)           | 15 (83,33%)           |                    |
| Energia (kcal/kg) <sup>c</sup>    | 68 | 30,03 (± 9,57)        | 30,91 (± 9,91)        | 27,41 (± 8,17)        | 0,503†             |
| Proteína (g/kg) <sup>a</sup>      | 68 | 0,98 (0,79 – 1,31)    | 0,98 (0,78 – 1,31)    | 0,98 (0,83 - 1,30)    | 0,983*             |
| Zn dietético (mg) <sup>a</sup>    | 68 | 7,73 (5,91 - 10,11)   | 7,77 (5,85 – 10,11)   | 7,72 (6,45 – 9,42)    | 0,994*             |
| Adequação Zn <sup>a</sup>         | 68 | 46,61 (31,74 - 66,36) | 42,47 (30,50 – 67,36) | 49,60 (38,97 - 64,04) | 0,415*             |
| Cu dietético (mg) <sup>a</sup>    | 68 | 0,78 (0,56 - 1,10)    | 0,72 (0,56 – 1,00)    | 0,87 (0,63 - 1,20)    | 0,266*             |
| Adequação Cu <sup>a</sup>         | 68 | 57,73 (36,13- 79,74)  | 52,79 (35,94 - 79,10) | 63,31 (42,28 - 88,72) | 0,318*             |

IMC: Índice de Massa Corporal; kg: quilogramas; m: metros; PC: Perímetro da cintura; cm: centímetros; PP: Perímetro da panturrilha; MMA: Massa magra apendicular; AF: Ângulo de fase; SPPB: *Short Physical Performance Battery*; FPPmáx: Máxima força de preensão palmar; kcal: quilocalorias; g: gramas; Zn: Zinco; mg: miligramas; Cu; cobre.

<sup>a</sup> Mediana (IIQ)

<sup>b</sup> Número absoluto e percentual

<sup>c</sup> Média (DP)

Valores p derivados do \*Teste U Mann-Whitney; †Teste t de Student para amostras independentes e <sup>£</sup>Teste Qui-quadrado.

Analisando a associação do AF com a RCZ dicotomizada encontrou-se menor mediana de AF no grupo de idosos com maior RCZ (4,78 (4,26 – 5,59) vs 5,56 (4,81 – 6,24), p = 0,026). Nas análises de regressão de Poisson, com variância robusta para o último quartil da RCZ (> 1,63) e AF, encontramos uma razão de prevalência de 0,63 (IC 95% 0,47– 0,86; p = 0,004) para o modelo sem ajuste, e de 0,62 (IC 95% 0,47 - 0,81; p = 0,001) para o modelo ajustado para idade (Tabela 3), mostrando que, para cada aumento de um ponto no AF, a prevalência de elevada RCZ diminui em 62%.

Tabela 3 - Análise de Regressão de Poisson com variância robusta para o último quartil da razão cobre e zinco (RCZ > 1,63) e ângulo de fase ajustada ou não por idade.

| Variáveis      | RP   | IC 95%      | Valor p |
|----------------|------|-------------|---------|
| Modelo 1       |      |             |         |
| Ângulo de fase | 0,63 | 0,47 – 0,86 | 0,004   |
| Modelo 2       |      |             |         |
| Ângulo de fase | 0,62 | 0,47 – 0,81 | 0,001   |

Modelo 1: sem ajuste; Modelo 2: ajustado para sexo e idade.

Teste de Hosmer & Lemeshow para o modelo 1 = 0,986; para o modelo 2 = 0,983.

RP: Razão de prevalência; IC: Intervalo de confiança.

## DISCUSSÃO

A RCZ é de relevância clínica para o âmbito da geriatria e gerontologia e no estudo do envelhecimento saudável pois tem sido apontada como um importante preditor de declínio funcional [12] e está negativamente associada à manutenção ou retorno à homeostase pós evento desregulador [10]. Os baixos níveis plasmáticos de Zn encontrados contribuíram para uma maior RCZ na população estudada, no entanto, pela carência de pontos de corte desta relação em pessoas idosas longevas, não avaliamos a adequação desta relação e sim, sua associação com marcadores de saúde muscular, tentando contribuir para a elucidação entre a RCZ e envelhecimento saudável.

Ao comparar octogenários saudáveis e doentes, Mezzeti et al. (1998) verificaram que o aumento da RCZ no grupo controle foi causado pela elevação de Cu plasmático, enquanto que em idosos doentes, houve conjuntamente uma diminuição de Zn. Ademais, a RCZ foi significativamente relacionada ao estresse oxidativo sistêmico em ambos os grupos, evidenciado pelo maior conteúdo de peróxidos lipídicos no plasma [13]. Em nossa amostra de idosos saudáveis, não encontramos valores de Cu plasmático acima do valor de referência adotado, enquanto 56,3% dos idosos apresentaram baixos níveis de Zn plasmático. Estes dados ressoam com os achados de Malavolta et al. (2010) já que a maioria das alterações na RCZ relacionadas à idade resultou de um declínio progressivo de Zn plasmático em sua amostra de idosos com idade superior a 70 anos. Malavolta et al. (2010) ainda observaram que a RCZ foi maior em mulheres do que em homens [11], entretanto, no presente estudo não encontramos diferença significativa entre os sexos.

Em consonância aos achados do presente estudo, mais recentemente o grupo ZincAge encontrou média de  $1,54 \pm 0,43$  para RCZ em amostra de  $74,6 \pm 8,7$  anos. Neste estudo, a RCZ aumentou gradativamente com o avançar da idade e foi significativamente maior entre as mulheres [37]. Belbraouet et al. (2007) aponta que, em um subgrupo de idosos saudáveis de  $80,4 \pm 5,3$  anos, 70,9% apresentaram RCZ maior que 1,15, sendo a média encontrada igual a  $1,30 \pm 0,23$ . Os dois estudos supracitados destacam que a RCZ aumentou graças ao declínio progressivo de Zn plasmático [38]. Madaric, Ginter & Kadrabova (1994) também apontaram que a RCZ aumenta com o decorrer do tempo. Entretanto, a RCZ esteve relacionada tanto com aumento do Cu quanto com a redução de Zn no plasma em subgrupo de homens saudáveis com 75 a 89 anos de idade, cuja média de RCZ foi igual a  $1,53 \pm 0,21$  [39].

Destaca-se que, apesar das medianas de consumo de Cu e Zn estarem abaixo do preconizado pelo IOM [40] e dos percentuais de inadequação destes minerais encontrados estarem elevados, estas variáveis dietéticas não estiveram associadas à RCZ. Apesar disso, e diante da diferença na eficiência absorptiva de Cu e Zn documentada na literatura, levando em consideração que o Zn pode ter sua absorção até 20% reduzida em idosos [41], essa discrepância entre o consumo e absorção destes minerais pode explicar parcialmente a diferença encontrada entre a adequação de seus níveis plasmáticos.

Os níveis plasmáticos de Cu e de Zn são rigorosamente regulados por mecanismos compensatórios que estabilizam suas concentrações quase que independentemente da ingestão nutricional. Isto porque, em estudos com adultos, a homeostase do Zn parece não ser grandemente impactada por alterações dietéticas, exceto em casos de deficiência grave [42] e o Cu plasmático parece ser ainda menos afetado por estas variações [43]. Por estes motivos, a RCZ não está majoritariamente associada à componentes nutricionais [11].

No intuito de explorar a relação entre a RCZ e a saúde muscular encontramos associação com o AF, considerado um índice de saúde celular pois reflete a integridade da membrana, as quantidades relativas de fluído extra e intracelular e, portanto, a massa celular [44]. A redução do AF com o envelhecimento reflete a diminuição da massa celular corporal relacionada com o avançar da idade, o que se caracteriza por uma redução da integridade celular e consequente maior proporção de água extracelular [45, 46].

Idosos saudáveis com 85 anos ou mais analisados por Reljic et al. (2020) apresentaram AF médio de  $3,41 \pm 0,64^\circ$ , valor cerca de 37% menor quando comparado ao valor de referência da população mais jovem [47]. No entanto, apesar da diminuição do AF no decorrer dos anos ser prevista, há uma associação entre AF reduzido e sarcopenia [48 – 51], fragilidade [49, 52 - 54] e mortalidade [48, 52, 55, 56] em populações geriátricas distintas.

Uemura, Yamada e Okamoto (2019) identificaram que o AF foi um fator de risco significativo para quedas (risco relativo 2.32, IC 95% 1.03-5.21) em idosos com idade superior a 65 anos [57]. Bittencourt et al. (2020) apontaram que mulheres idosas com 71 ( $\pm 4.38$ ) anos e com AF acima do valor médio encontrado ( $5.56 \pm 0.63^\circ$ ) apresentavam 4,77 vezes mais chances de ter velocidade de marcha aumentada (IC 95%; 2,40-9,48) [58]. Asano et al. (2023) estimou que a realocação de 30

minutos por dia para atividade física moderada a vigorosa corresponderia a um aumento de 2,3% no AF em idosos saudáveis [59]. Estes achados indicam que o AF é um bom indicador de qualidade muscular em idosos.

Tomeleri et al (2018) observou, em idosos fisicamente independentes (com  $67,7 \pm 5,7$  anos e AF de  $5,7 \pm 0,6$ ), uma relação inversa entre AF e biomarcadores inflamatórios (IL-6, TNF- $\alpha$  e PCR) e direta entre AF e parâmetros antioxidantes (catalase, superóxido-dismutase e antioxidante total aprisionador de radicais). Este achado pode inferir que o estado inflamatório de baixo grau sustentado característico do envelhecimento poderia estar relacionado à dano celular enquanto a manutenção da defesa antioxidante preveniria a perda de integridade celular [60]. É por este motivo que Malavolta et al. (2010) considera a RCZ um biomarcador inflamatório/nutricional [11], já que a diminuição do Zn plasmático está relacionada ao aumento da inflamação [37] e à diminuição da capacidade antioxidante [61, 62].

Considerando o desenho do nosso estudo, não é possível determinar causa e efeito, no entanto, a RCZ pode estar associada ao AF pois é provável que o aumento de Cu e/ou a diminuição de Zn no plasma tenha impacto sob a integridade celular e a saúde muscular. O Cu elevado induz a produção de espécies reativas de oxigênio e acentua a instabilidade genômica. Quando há elevadas concentrações de íons de Cu, pode haver indução de morte celular via apoptose, paraptose, ferroptose, cuproptose ou autofagia [63]. Baixos níveis plasmáticos de Zn também propiciam a produção de espécies reativas de oxigênio e de nitrogênio além da ativação de caspases [64], da inibição de vias de sobrevivência endógenas [65] e da amplificação de uma variedade de genes pró-apoptóticos como o p53, p21, o fator transformador de crescimento beta e o retinoblastoma-1 [66].

In vitro, a privação de Zn pode aumentar a expressão de Bax, uma proteína pró-apoptótica enquanto também diminui os níveis celulares das proteínas antiapoptóticas Bcl-2 e Bcl-XL. É por este motivo que o status de Zn pode ditar a sobrevivência de diversos tipos celulares [67].

Quando comparados à adultos, a atividade de superóxido dismutase (SOD) eritrocitária [61, 68] ou no sangue total [69] está reduzida em idosos saudáveis [60, 67], e parece estar inversamente relacionada ao nível de atividade física [70]. Entretanto, este declínio não parece ser necessariamente progressivo, já que o estudo ZincAge encontrou maior atividade de SOD eritrocitária em nonagenários do que em octogenários [71]. Ressalta-se que variações na RCZ podem levar à

alterações na atividade da SOD1, uma vez que íons Cu e Zn desempenham papel crítico na estabilidade e função desta enzima ativa que, por sua vez, pode estar atrelada à proteção das mitocôndrias contra superóxidos [72]. Experimentalmente, a deficiência de SOD1 aumenta o estresse oxidativo e acelera a atrofia do músculo esquelético dependente da idade [73].

Quanto à relação entre a RCZ e os demais indicadores de qualidade e quantidade muscular, não foram encontradas associações estatisticamente significativas. O estudo iLSIRENTE (2012) com indivíduos de 80 anos ou mais, por sua vez, encontrou associação inversa entre a RCZ e a pontuação do SPPB. Isso se deve, provavelmente, aos elevados valores de RCZ encontrados neste estudo (média de 1,93 em homens e 2,06 em mulheres) enquanto no nosso estudo a média foi de 1,48 ( $\pm 0,15$ ) no sexo masculino e 1,54 ( $\pm 0,16$ ) no sexo feminino [12]. Ademais, os idosos que compuseram nossa amostra são saudáveis e ativos, visto que 53,6% praticam exercício físico regularmente e 91,3% praticam alguma atividade física. Alguns estudos demonstraram, ainda, associação significativa entre a RCZ e a força de preensão palmar, entretanto, englobaram amplas faixas etárias [74] ou foram realizados com idosos frágeis [3]. Ainda não temos evidências de que esta associação exista no contexto do envelhecimento saudável.

Uma limitação deste estudo pode ser o tamanho amostral, que nos limitou a realizar as análises de RCZ por sexo ou faixa etária. Entretanto, é importante considerar que idosos saudáveis com idade superior a 80 anos configuram uma pequena parcela da população brasileira. A ausência de dados de ceruloplasmina e albumina plasmáticas e urinárias e de SOD também configura uma limitação para uma maior compreensão das relações observadas.

Destaca-se que o presente estudo foi o primeiro a avaliar a RCZ e sua associação com indicadores de qualidade e quantidade muscular e consumo alimentar em uma amostra homogênea de idosos saudáveis com envelhecimento saudável e idade superior a 80 anos. Assim, foi o primeiro a encontrar associação estatisticamente significativa entre a RCZ e o AF, contribuindo para ampliar o campo de pesquisa sobre este índice. Entretanto, os mecanismos pelos quais o aumento de Cu e/ou a diminuição de Zn no plasma favoreceriam o dano celular ainda carecem de elucidação.

## CONCLUSÃO

A associação inversa significativa encontrada entre a RCZ e o ângulo de fase, indicador de integridade celular, é o achado diferencial deste estudo, uma vez que tanto um quanto o outro estão

atrelados a um maior risco de declínio funcional e mortalidade em diferentes populações geriátricas, incluindo as longevas. A desregulação dos níveis plasmáticos de Cu e de Zn pode levar a alterações nos níveis celulares desses íons que, por sua vez, podem estar envolvidos na sobrevivência de alguns tipos celulares. O ângulo de fase pode, portanto, representar um bom marcador de saúde muscular em idosos longevos saudáveis.

## **FINANCIAMENTO**

Este trabalho foi apoiado pela Fundação de Amparo à Pesquisa de Minas Gerais (FAPEMIG), Processo APQ-00835-18.

## **REFERÊNCIAS**

- [1] Carlsson AC, Teobald H, Wandell PE. Health factors and longevity in men and women: a 26-year follow-up study. *Eur J Epidemiol* 2010; 25:547–51.
- [2] Kennedy, E. T. Evidence for nutritional benefits in prolonging wellness. *Am J Clin Nutr* 2006; 83:410s–4s.
- [3] Gaier ED, Kleppinger A, Ralle M, Mains RE, Kenny AM, Eipper BA. High serum Cu and Cu/Zn ratios correlate with impairments in bone density, physical performance and overall health in a population of elderly men with frailty characteristics. *Exp Gerontol* 2012; 47(7):491-6.
- [4] Vega-Cabello V, Caballero FF, Lana A, Arias-Fernandez L, Banegas JR, Rodríguez-Artalejo F, et al. Association of zinc intake with risk of impaired physical function and frailty among older adults. *J Gerontol: Series A* 2022; 77(10):2015-22.
- [5] Abeywickrama HM, Uchiyama M, Sumiyoshi T, Okuda A, Koyama Y. The role of zinc on nutritional status, sarcopenia, and frailty in older adults: A scoping review. *Nutr Rev* 2023.
- [6] Mayne ST. Antioxidant nutrients and chronic disease: use of biomarkers of exposure and oxidative stress status in epidemiologic research. *J Nutr* 2003; 133:933–40.

- [7] Mecocci P, Fanó G, Fulle S, MacGarvey U, Shinobu L, Polidori MC, et al. Age-dependent increases in oxidative damage to DNA, lipids, and proteins in human skeletal muscle. *Free Radic Biol Med* 1999; 26:303–8.
- [8] Howard C, Ferrucci L, Sun K, Fried LP, Walston J, Varadhan R, Guralnik JM, Semba RD. Oxidative protein damage is associated with poor grip strength among older women living in the community. *J Appl Physiol* 2007; 103:17–20.
- [9] Semba RD, Ferrucci L, Sun K, Walston J, Varadhan R, Guralnik JM, Fried LP. Oxidative stress and severe walking disability among older women. *Am J Med* 2007; 120:1084–9.
- [10] Malavolta M, Piacenza F, Basso A, Giacconi R, Costarelli L, Mocchegiani E. Serum copper to zinc ratio: Relationship with aging and health status. *Mech Ageing Dev* 2015; 151:93-100.
- [11] Malavolta M, Giacconi R, Piacenza F, Santarelli L, Cipriano C, Costarelli L, et al. Plasma copper/zinc ratio: an inflammatory/nutritional biomarker as predictor of all-cause mortality in elderly population. *Biogerontology* 2010; 11(3):309-19.
- [12] Mocchegiani E, Malavolta M, Lattanzio F, Piacenza F, Basso A, Abbatecola AM, et al. Cu to Zn ratio, physical function, disability, and mortality risk in older elderly (iLSIRENTE study). *Age* 2012; 34:539-52.
- [13] Mezzetti A, Pierdomenico SD, Costantini F, Romano F, De Cesare D, Cucurullo F, et al. Copper/zinc ratio and systemic oxidant load: effect of aging and aging-related degenerative diseases. *Free Radic Biol Med* 1998; 25(6):676-81.
- [14] Morawin B, Tylutka A, Bielewicz F, Zembron-Lacny A. Diagnostics of inflammaging in relation to sarcopenia. *Front Public Health* 2023; 11.
- [15] Zembron-Lacny A, Dziubek W, Wolny-Rokicka E, Dabrowska G, Wozniowski M. The relation of inflammaging with skeletal muscle properties in elderly men. *Am J Mens Health* 2019.
- [16] Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Coordenação de Pesquisas por Amostras de Domicílios. Pesquisa Nacional por Amostra de Domicílios Contínua: Características Gerais dos Moradores 2020-2021. [Internet]. 2022.

- [17] United Nations Department of Economic and Social Affairs, Population Division. World population prospects. [Internet]. 2022.
- [18] Moraes EN, Lanna FM, Santos RR, Bicalho MAC, Machado CJ, Romero DE. A new proposal for the clinical-functional categorization of the elderly: visual scale of frailty (VSfrailty). *J Aging Res Clin Practice* 2016; 5(1):24-30.
- [19] Folstein MF, Folstein SE, McHugh PR. "Mini-mental state". A practical method for grading the cognitive state of patients for the clinician. *J Psychiatr Res* 1975; 12(3):189- 98.
- [20] Bertolucci, P. H., Brucki, S., Campacci, S. R., & Juliano, Y. (1994). O mini-exame do estado mental em uma população geral: impacto da escolaridade. *Arquivos de Neuro-psiquiatria*, 52, 01-07.
- [21] Pfeffer RI, Kurosaki TT, Harrah JCH, Chance JM, Filos S. Measurement of functional activities in older adults in the community. *J Gerontol* 1982; 37(3):323-9.
- [22] World Health Organization. Physical status: the use and interpretation of anthropometry. [Internet] Geneva; 1995, 452 p.
- [23] Chumlea WC, Roche AF, Steinbaugh ML. Estimating stature from knee height for persons 60 to 90 years of age. *J Am Geriatr Soc* 1985; 33:116-20.
- [24] Chumlea WC, Guo S, Roche AF, Steinbaugh ML. Prediction of body weight for the nonambulatory elderly from anthropometry. *J Am Diet Assoc* 1988; 88:564e8.
- [25] Organización Panamericana de la Salud - OPAS. Encuesta Multicéntrica Salud Bienestar y Envejecimiento (SABE) en América Latina y el Caribe: informe preliminar. 36ª Reunión del Comité Asesor de Investigaciones en Salud; Kingston. Washington, D.C: OPAS, 2002.
- [26] Barbosa-Silva TG, Bielemann RM, Gonzalez MC, Menezes ANB. Prevalence of sarcopenia among community-dwelling elderly of a medium-sized South American city: results of the COMO VAI? Study. *J Cachexia Sarcopenia Muscle* 2016; 7:136-46.
- [27] Baumgartner RN, Chumlea WC, Roche AF. Bioelectric impedance phase angle and body composition. *Am J Clin Nutr* 1988; 48:16–23.

- [28] Peniche DBR, Giorguli GR, Aleman-Mateo H. Accuracy of a predictive bioelectrical impedance analysis equation for estimating appendicular skeletal muscle mass in a non-Caucasian sample of older people. *Arch Gerontol Geriatr* 2015; 61(1):39-43.
- [29] Cruz-Jentoft AJ, Bahat G, Bauer J, Boirie Y, Bruyère O, Cederholm T, et al. Sarcopenia: revised European consensus on definition and diagnosis. *Age and ageing* 2019; 48(1):16-31.
- [30] Guralnik JM, Ferrucci L, Simonsick EM, Salive ME, Wallace RB. Lower-extremity function in persons over the age of 70 years as a predictor of subsequent disability. *N Engl J Med* 1995; 332(9): 556-62.
- [31] Ferrucci L, Penninx BW, Leveille SG, Corti MC, Pahor M, Wallace R, et al. Characteristics of nondisabled older persons who perform poorly in objective tests of lower extremity function. *J Am Geriatr Soc* 2000; 48(9):1102-10.
- [32] Penninx BW, Ferrucci L, Leveille SG, Rantanen T, Pahor M, Guralnik JM. Lower extremity performance in nondisabled older persons as a predictor of subsequent hospitalization. *J Gerontol Series A: Biol Sci and Med Sci* 2000; 55(11):691-7.
- [33] Thompson FE, Byers T. Dietary assessment resource manual. *J Nutr* 1994; 124(11):2245-317.
- [34] Willett WC. *Nutritional epidemiology*. 2 ed. Oxford: Oxford University Press; 1998.
- [35] Institute of Medicine. *Dietary reference intakes: the essential guide to nutrient requirements*. National Academies Press, 2006.
- [36] Association of Official Analytical Chemists-AOAC. *Official methods of analysis*. Washington, DC, 19<sup>th</sup> ed; 2012.
- [37] Giacconi R, Costarelli L, Piacenza F, Basso A, Rink L, Mariani E, et al. Main biomarkers associated with age-related plasma zinc decrease and copper/zinc ratio in healthy elderly from ZincAge study. *Eur J Nutr* 2017; 56(8):2457-66.
- [38] Belbraouet S, Biaudet H, Tébi A, Chau N, Gray-Donald K, Debry G. Serum zinc and copper status in hospitalized vs. healthy elderly subjects. *J Am Coll Nutr* 2007; 26(6):650-4.

- [39] Mad'aric A, Ginter E, Kadrabova J. Serum copper, zinc and copper/zinc ratio in males: influence of aging. *Physiol Res* 1994; 43:107.
- [40] Institute of Medicine (IOM). Dietary reference intakes for vitamin A, vitamin K, arsenic, boron, chromium, copper, iodine, iron, manganese, molybdenum, nickel, silicon, vanadium, and zinc. Washington (DC): The National Academies Press; 2001.
- [41] August D, Janghorbani M, Young VR. Determination of zinc and copper absorption at three dietary Zn-Cu ratios by using stable isotope methods in young adult and elderly subjects. *Am J Clin Nutr* 1989; 50(6):1457-63.
- [42] Lowe NM, Medina MW, Stammers AL, Patel S, Souverein OW, Dullemeijer C, Serra-Majem L, Nissensohn M, Moran VH. 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; 108:1962–71.
- [43] Turnlund JR, Keen CL, Smith RG. Copper status and urinary and salivary copper in young men at three levels of dietary copper. *Am J Clin Nutr* 1990; 51(4):658-64.
- [44] Ward LC, Brantlov S. Bioimpedance basics and phase angle fundamentals. *Rev Endocr Metab Disord* 2023; 24(3):381-91.
- [45] Atlantis E, Martin SA, Haren MT, Taylor AW, Wittert GA. Lifestyle factors associated with age-related differences in body composition: the Florey Adelaide Male Aging Study. *Am J Clin Nutr* 2008; 88:95-104.
- [46] St-Onge MP, Gallagher D. Body composition changes with aging: the cause or the result of alterations in metabolic rate and macronutrient oxidation? *Nutrition* 2010; 26:152-5.
- [47] Reljic D, Zarafat D, Jensen B, Herrmann HJ, Neurath MF, Konturek PC, Zopf Y. Phase angle and vector analysis from multifrequency segmental bioelectrical impedance analysis: new reference data for older adults. *J Physiol Pharmacol* 2020; 71(4).
- [48] Kwon YE, Lee JS, Kim JY, Baeg SI, Choi HM, Kim HB, et al. Impact of sarcopenia and phase angle on mortality of the very elderly. *J Cachexia, Sarcopenia Muscle* 2023; 14(1):279-87.

- [49] Rosas-Carrasco O, Ruiz-Valenzuela RE, López-Teros MT. Phase Angle cut-off points and their Association with Sarcopenia and Frailty in adults of 50–64 years old and older adults in Mexico City. *Front Med*, 2021.
- [50] Di Vincenzo O, Marra M, Di Gregorio A, Pasanisi F, Scalfi, L. Bioelectrical impedance analysis (BIA)-derived phase angle in sarcopenia: a systematic review. *Clin Nutr* 2021; 40(5):3052-61.
- [51] Kilic MK, Kizilarslanoglu MC, Arik G, Bolayir B, Kara O, Dogan Varan H, et al. Association of bioelectrical impedance analysis–derived phase angle and sarcopenia in older adults. *Nutr Clin Pract* 2017; 32(1):103-09.
- [52] Wilhelm-Leen ER, Hall YN, Horwitz RI, Chertow GM. Phase angle, frailty and mortality in older adults. *J Gen Intern Med* 2014; 29:147-54.
- [53] Güner M, Ceylan S, Baş AO, Kahyaoğlu Z, Çöteli S, Koca M, et al. Phase angle is associated with frailty in community-dwelling older adults. *Nutrition* 2023; 116.
- [54] Tanaka S, Ando K, Kobayashi K, Seki T, Hamada T, Machino M, et al. Low bioelectrical impedance phase angle is a significant risk factor for frailty. *BioMed Res Int* 2019.
- [55] Genton L, Norman K, Spoerri A, Pichard C, Karsegard VL, Herrmann FR, Graf CE. Bioimpedance-derived phase angle and mortality among older people. *Rejuvenation Res* 2017; 20(2):118-24.
- [56] Garlini LM, Alves FD, Ceretta LB, Perry IS, Souza GC, Clausell NO. Phase angle and mortality: a systematic review. *Eur J Clin Nutr* 2019; 73(4):495-508.
- [57] Uemura K, Yamada M, Okamoto H. Association of bioimpedance phase angle and prospective falls in older adults. *Geriatr Gerontol Int* 2019; 19(6):503-7.
- [58] Bittencourt DCD, Schieferdecker MEM, Macedo DS, Biesek S, Silveira Gomes AR, Rabito EI. Phase angle reflects loss of functionality in older women. *J Nutr Health Aging* 2020; 24:251-4.

- [59] Asano Y, Nagata K, Shibuya K, Fujii Y, Kitano N, Okura T. Association of 24-h movement behaviors with phase angle in community-dwelling older adults: a compositional data analysis. *Aging Clin Exp Res* 2023; 1-8.
- [60] Tomeleri CM, Cavaglieri CR, de Souza MF, Cavalcante EF, Antunes M, Nabbuco HCG, et al. Phase angle is related with inflammatory and oxidative stress biomarkers in older women. *Exp Gerontol* 2018; 102:12-8.
- [61] Sfar S, Jawed A, Braham H, Amor S, Laporte F, Kerkeni A. Zinc, copper and antioxidant enzyme activities in healthy elderly Tunisian subjects. *Exp Gerontol* 2009; 44(12):812-7.
- [62] Moroni F, Di Paolo ML, Rigo A, Cipriano C, Giacconi R, Recchioni R, et al. Interrelationship among neutrophil efficiency, inflammation, antioxidant activity and zinc pool in very old age. *Biogerontology* 2005; 6:271-81.
- [63] Xue Q, Kang R, Klionsky DJ, Tang D, Liu J, Chen X. Copper metabolism in cell death and autophagy. *Autophagy* 2023; 1-21.
- [64] Perry DK, Smyth MJ, Stennicke HR, Salvesen GS, Duriez P, Poirier GG, Hannun YA. Zinc is a potent inhibitor of the apoptotic protease, caspase-3. A novel target for zinc in the inhibition of apoptosis. *J Biol Chem* 1997; 272:18530-3.
- [65] Clegg MS, Hanna LA, Niles BJ, Momma TY, Keen CL. Zinc deficiency-induced cell death. *IUBMB life*, 2005; 57(10), 661-69.
- [66] Corniola RS, Tassabehji NM, Hare J, Sharma G, Levenson CW. Zinc deficiency impairs neuronal precursor cell proliferation and induces apoptosis via p53-mediated mechanisms. *Brain Res* 2008; 1237:52-61.
- [67] Rudolf E, Cervinka M. 2008. External zinc stimulates proliferation of tumor Hep-2 cells by active modulation of key signaling pathways. *J Trace Elem Med Biol* 22:149–61.
- [68] Fabian E, Bogner M, Elmadfa I. Age-related modification of antioxidant enzyme activities in relation to cardiovascular risk factors. *Eur J Clin Invest* 2012; 42(1):42-8.

- [69] Bolzán AD, Bianchi MS, Bianchi NO. Superoxide dismutase, catalase and glutathione peroxidase activities in human blood: influence of sex, age and cigarette smoking. *Clin Biochem* 1997; 30(6):449-54.
- [70] Rowiński R, Kozakiewicz M, Kędziora-Kornatowska K, Hübner-Woźniak E, Kędziora J. Markers of oxidative stress and erythrocyte antioxidant enzyme activity in older men and women with differing physical activity. *Exp Gerontol* 2013; 48(11):1141-6.
- [71] Mariani E, Cornacchiola V, Polidori MC, Mangialasche F, Malavolta M, Cecchetti R, et al. Antioxidant enzyme activities in healthy old subjects: influence of age, gender and zinc status: results from the Zincage Project. *Biogerontology* 2006; 7:391-8.
- [72] Bartnikas TB, Gitlin JD. Mechanisms of biosynthesis of mammalian copper/zinc superoxide dismutase. *J Biol Chem* 2003; 278(35):33602-8.
- [73] Muller FL, Song W, Liu Y, Chaudhuri A, Pieke-Dahl S, Strong R. Absence of CuZn superoxide dismutase leads to elevated oxidative stress and acceleration of age-dependent skeletal muscle atrophy. *Free Radic Biol Med* 2006; 40(11):1993-2004.
- [74] Luo L, Xu J, Jiang R, Yao B, Di J. Association between serum copper, zinc and their ratio and handgrip strength among adults: A study from National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES) 2011–2014. *Environ Sci Pollut Res* 2023; 30(11):29100-9.

## 6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Nessa pesquisa observamos que, mesmo no contexto de envelhecimento saudável, há uma alta incidência de deficiência de Zn plasmático e eritrocitário, acompanhada de um alto percentual de inadequação para ingestão e concentração urinária tanto de Zn quanto de Cu. A capacidade adaptativa que a mobilização do Zn armazenado transitoriamente nos eritrócitos e a alta prevalência de baixa excreção deste mineral representam visa manter a homeostase plasmática e, conseqüentemente, a entrega aos tecidos para exercício de funções primordiais.

Encontramos diferenças significativas entre sexos visto que homens apresentaram menor concentração de Zn urinário, sendo que metade da amostra masculina apresentava baixa excreção. Em relação à ingestão de Zn, homens tiveram maior média de consumo, contudo sem diferença estatisticamente significativa entre o percentual de adequação de ingestão. Quanto ao Cu, apesar da completa adequação de níveis plasmáticos e eritrocitários, a alta excreção urinária foi encontrada em mais de 95% da amostra. O percentual de adequação de Cu foi o único parâmetro deste mineral significativamente diferente entre os sexos, sendo maior no sexo masculino.

Estes achados demonstram que a senescência possui especificidades que merecem melhores elucidacões e não necessariamente demonstram concordância com os atuais valores de referência para biomarcadores e consumo de Zn e Cu em idosos longevos e saudáveis. Contudo, nestes idosos os biomarcadores de Zn e Cu não foram associados com a ingestão alimentar analisada, demonstrando que as alterações no metabolismo destes minerais extrapolam o componente dietético.

Os baixos níveis plasmáticos de Zn encontrados certamente contribuíram para uma maior RCZ, no entanto, não há parâmetros de pontos de corte desta relação que nos permitam uma análise mais profunda de sua adequação nesta população estudada. Entretanto, a associação inversa significativa encontrada entre a RCZ e o AF, indicador de integridade celular, é o achado diferencial deste estudo, uma vez que tanto um quanto o outro estão atrelados a um maior risco de declínio funcional e mortalidade em diferentes populações geriátricas, incluindo as longevas. A desregulação dos níveis plasmáticos de Cu e de Zn pode levar a alterações nos níveis celulares desses íons, que por sua vez, podem estar envolvidos na sobrevivência de alguns tipos celulares. Entretanto, os mecanismos pelos quais o aumento de Cu e/ou a diminuição de Zn no plasma favoreceriam o dano celular ainda carecem de elucidacão.

Todavia, a RCZ não esteve significativamente associada aos indicadores de qualidade e quantidade muscular, exceto o AF. Isto se deve provavelmente à homogeneidade da amostra no que tange à funcionalidade e hábitos de vida.

Os resultados desta dissertação lançam luz sob uma nova perspectiva relacionada propriamente ao metabolismo de Cu e Zn assim como à razão destes minerais e a integridade celular em idosos longevos e geram novos questionamentos. Pesquisas futuras devem se debruçar na comparação das variáveis aqui estudadas em amostras maiores, entre grupos de idosos saudáveis e idosos frágeis, com aferição de parâmetros que ajudariam a elucidar as diferenças encontradas entre os minerais, como a detecção de ALB e CP plasmáticas, a atividade de SOD plasmática e eritrocitária, bem como a razão ALB/Cu e CP/Cu urinárias. Dado que o consumo alimentar destes micronutrientes é relevante e pode impactar especialmente os biomarcadores de Zn, o aspecto nutricional deve continuar sendo pesquisado. Ademais, a investigação de marcadores inflamatórios e de estresse oxidativo seria importante para acessarmos a relação entre o processo de *inflammaging* e a RCZ já descrito em estudos com outros delineamentos.

Resta salientar que, apesar dos achados contrastarem com a hipótese inicial, eles reforçam a capacidade orgânica adaptativa que ocorre em prol do envelhecimento saudável sustentado. Entretanto, destacamos a necessidade de enfoque no aspecto nutricional de pessoas idosas, especialmente quanto ao Zn, considerando que mais de um terço da população idosa brasileira consome quantidades insuficientes deste mineral e que uma abordagem para reeducação alimentar poderia ser estimulada no âmbito individual e coletivo sem desconsiderar que o olhar à pessoa idosa deve manter-se atento à sua funcionalidade e estilo de vida e que uma avaliação holística e multidimensional é o caminho de se evitar iatrogenias.

## APÊNDICES

### APÊNDICE A – Termo de consentimento livre e esclarecido

#### TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

O Sr. (a) está sendo convidado (a) como voluntário (a) a participar da pesquisa:  
**“Perfil de minerais de idosos e suas correlações com o envelhecimento saudável”.**

Nesta pesquisa temos como objetivo estudar os níveis de magnésio, selênio, cálcio, zinco, cobre, manganês, sódio, potássio e ferro presente em uma amostra sua de sangue e urina, e avaliar se estes minerais estão associados com o envelhecimento saudável. Assim, você será avaliado agora e a cada seis meses por até dois anos, para que possamos acompanhar os níveis sanguíneos destes minerais enquanto você envelhece buscando compreender a relação destes com o envelhecimento saudável e do risco de fragilização. Durante a pesquisa caso diagnosticarmos uma deficiência de qualquer um destes minerais avaliados, você será tratado de imediato.

Pedimos sua autorização para utilizar os dados coletados (como peso, altura, dados de presença de doenças e medicamentos utilizados) durante a sua consulta com o geriatra e o nutricionista do ambulatório de Atenção multiprofissional ao idoso robusto e em risco de fragilização, do Serviço de Geriatria e Gerontologia do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), onde você é atendido, sendo estes dados contidos no seu prontuário. Também pedimos autorização para coletar dos prontuários os resultados dos exames bioquímicos (de sangue) que o geriatra lhe solicitou e que você realizou no laboratório da UFMG. Além destes procedimentos de rotina no ambulatório, faremos a coleta de uma amostra de sangue, uma amostra de urina de 24 horas, o exame de bioimpedância e a calorimetria indireta.

A coleta de sangue será realizada em laboratório próprio para coleta de material biológico, localizado no primeiro andar do Instituto Jenny de Andrade Faria, por profissional técnico em enfermagem no período da manhã, entre 7 e 9 horas, sendo necessário jejum de 12 horas.

O exame de calorimetria indireta é um procedimento não-invasivo e será útil para determinarmos a necessidade de energia do seu corpo através da análise do ar inspirado e ar expirado pelo seu pulmão. O teste possui duração média de 15 minutos e requer repouso de 30 minutos antes do exame. Será feito aqui no ambulatório e necessita de jejum de 2-3 horas.

Após o repouso de 30 minutos, uma máscara de material plástico flexível será confortavelmente ajustada a seu rosto e conectada ao calorímetro. Durante a avaliação você permanecerá deitado de barriga para cima, sem se movimentar, respirando naturalmente. Salientamos que para sua segurança, após finalizado o processo, as máscaras e tubos serão devidamente higienizados em laboratório próprio conforme padrões estabelecidos por normativas.

A bioimpedância também é um exame não-invasivo que utilizaremos para avaliação da sua composição corporal, como a quantidade de massa muscular e de gordura corporal, água corporal total. Antes de iniciar este exame você deverá ficar em repouso por 10 minutos. Para realizar o exame você deverá permanecer deitado de barriga para cima e serão colocados eletrodos em sua mão e pé, e nestes conectados os grampos do equipamento. Por meio destes grampos (que estão conectados a fios) uma corrente elétrica passará pelo seu corpo, mas você não sentirá nada durante o procedimento, pois esta corrente elétrica é de muito

baixa intensidade. O exame tem duração de cerca de 2 minutos, após iniciado, sendo necessário que você permaneça sem mexer durante este tempo. Para sua realização é necessário jejum de 4 horas de alimentos e bebidas (inclusive de água), estar a 24 horas antes do exame sem praticar atividade física; urinar antes da realização do exame para estar de “bexiga vazia”; e retirar todos os adornos metálicos (ex. relógio, anel, pulseira, colar), exceto pelos brincos.

Para aproveitar o momento de jejum os procedimentos de bioimpedância e calorimetria serão realizados no mesmo dia da coleta de sangue. Após estes procedimentos você receberá um lanche no próprio ambulatório e em seguida irá para a consulta nutricional e geriátrica.

Qualquer preparo não realizado para algum dos exames citados acima impede a realização do mesmo por risco de resultado incorreto.

A coleta de urina será realizada por você no seu domicílio, em um frasco próprio que será entregue, sem custo, pelos pesquisadores. Sendo que você deverá trazer o franco cheio na data do atendimento nutricional.

A pesquisa envolve riscos mínimos. A coleta de sangue causa um desconforto local, podendo surgir hematomas e eventualmente um leve mal-estar durante a coleta. Todo o pessoal responsável pela coleta é treinado para isto e todos os procedimentos de segurança estão garantidos. Todavia em caso de aparecimento de hematoma, você será orientado pelo profissional de enfermagem da coleta sobre cuidados para a eliminação do mesmo, como por exemplo realizar compressas de gelo por aproximadamente 15 minutos no local, tendo o cuidado de não ser diretamente sobre a pele.

Além disto, caso durante a pesquisa seja identificado através dos exames realizados algum problema ou alteração de saúde, como deficiência de algum mineral, você será comunicado e será avaliado pelo geriatra e nutricionista. Estes avaliarão a necessidade de suplementar sua alimentação ou adequar seu consumo alimentar.

A utilização destas informações coletas tanto no atendimento quanto nos exames está vinculada somente a este projeto de pesquisa ou se Sr. (a) concordar em outros futuros. Estas informações, assim como os resultados dos exames, serão registradas em seu prontuário no ambulatório.

Os benefícios diretos e indiretos para você ao participar da pesquisa serão decorrentes dos resultados da pesquisa, onde poderemos melhorar nossa compreensão sobre a relação destes minerais com envelhecimento saudável e do risco de fragilização.

Para participar deste estudo você não terá nenhum custo nem receberá qualquer vantagem financeira. Apesar disso, caso sejam identificados e comprovados danos provenientes desta pesquisa, o Sr.(a) tem assegurado o direito à indenização.

O Sr. (a) terá o esclarecimento sobre o estudo em qualquer aspecto que desejar e estará livre para participar ou recusar-se a participar a qualquer tempo e sem quaisquer prejuízos.

A sua **participação é voluntária**, e a recusa em participar **não acarretará qualquer penalidade** ou modificação na forma em que o Sr. (a) é atendido (a) pela equipe. Os resultados obtidos pela pesquisa estarão à sua disposição quando finalizada.

Seu nome, que indica sua participação, **não** será liberado e o (a) Sr. (a) não será identificado (a) em nenhuma publicação que possa resultar.

Este termo de consentimento encontra-se impresso em duas vias originais, sendo que uma será arquivada pelo pesquisador responsável, no prontuário clínico do hospital e a outra será fornecida ao Sr. (a). Os dados utilizados na pesquisa ficarão arquivados com o pesquisador responsável por um período de 5 (cinco) anos após o encerramento da pesquisa, no ambulatório Jenny de Andrade Faria do HC-UFMG e após esse tempo serão destruídos.

Em concordância com a Resolução CNS Nº 411, 12 maio 2011, a pesquisa conta com termo de biorrepositório e declaração de formação de biorepositório referentes a formação de uma coleção de material biológico humano (sangue e urina), coletados e armazenados ao longo da execução deste projeto de pesquisa, conforme regulamento ou normas técnicas, éticas e operacionais pré-definidas, sob responsabilidade institucional e sob gerenciamento do pesquisador, sem fins comerciais.

Este material biológico coletado (sangue e urina) será armazenado no Laboratório de Nutrição Experimental da Escola de Enfermagem/UFMG, permanecendo sua guarda sob a responsabilidade e gerenciamento do pesquisador responsável. O seu sangue e urina coletados serão usados somente para esta pesquisa, sendo descartado após o término da execução deste estudo. Tal descarte ocorrerá conforme normas vigentes de órgãos técnicos competentes, segundo descrição: As alíquotas de sangue e urina utilizadas para análises de minerais em espectrometria de emissão atômica são diluídas em meio ácido, sendo a matriz orgânica destruída e a solução ionizada destruída a temperaturas acima de 6000°C. Alíquotas não utilizadas desses materiais, são desinfetadas com hipoclorito a 1%, atendendo a normas de descarte previstas na RDC 222 da Anvisa e dispostos em conformidade com as regras estabelecidas pelos órgãos ambientais e pelos serviços de saneamento competentes.

Os pesquisadores tratarão a sua identidade com padrões profissionais de sigilo, atendendo a legislação brasileira (Resoluções Nº 466/12; 441/11 e a Portaria 2.201 do Conselho Nacional de Saúde e suas complementares), utilizando as informações somente para fins acadêmicos e científicos.

Suas informações são muito valiosas para o desenvolvimento desta pesquisa.

Caso você tenha dúvidas ou necessite algum esclarecimento, entrar em contato com o pesquisador responsável Ann Kristine Jansen pelo telefone (31) 3409-9858 ou com o (a) pesquisador(a) (nome) \_\_\_\_\_ pelo telefone (\_\_\_\_)\_\_\_\_\_.

O Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Minas Gerais (CEP-UFMG) também poderá ser consultado para dúvidas/denúncias relacionadas à Ética da Pesquisa no endereço Av. Presidente Antonio Carlos, 6627, Pampulha, Belo Horizonte, MG -Unidade Administrativa II - 2º Andar - Sala: 2005, ou pelo telefone (031) 3409-4592.

Eu, \_\_\_\_\_, fui informado (a) dos objetivos, métodos, riscos e benefícios da pesquisa, de maneira clara e detalhada, esclareci minhas dúvidas e estou ciente que meus dados serão tratados com absoluta segurança para garantir a confidencialidade, privacidade e anonimato.

Declaro que concordo em participar desta pesquisa. Recebi uma via original deste termo de consentimento livre e esclarecido assinado por mim e pelo pesquisador, que me deu a oportunidade de ler e esclarecer todas as minhas dúvidas.

Assinatura do participante: \_\_\_\_\_

Rubrica do participante \_\_\_\_\_

Assinatura do investigador: \_\_\_\_\_

Rubrica do investigador \_\_\_\_\_

Data \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

## APÊNDICE B – Ficha da coleta de dados

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS  
GERAIS**



**HOSPITAL DAS CLÍNICAS**



**NÚCLEO DE GERIATRIA E  
GERONTOLOGIA**

**INSTITUTO JENNY DE ANDRADE FARIA DE ATENÇÃO A SAÚDE DO IDOSO**

|                         |
|-------------------------|
| <b>PROJETO MINERAIS</b> |
|-------------------------|

|                                       |
|---------------------------------------|
| <b>IDENTIFICAÇÃO DO ENTREVISTADOR</b> |
|---------------------------------------|

Identificação do entrevistador:

Data da entrevista:

1. DATA: \_\_\_\_\_

|                                     |
|-------------------------------------|
| <b>CARACTERÍSTICAS DEMOGRÁFICAS</b> |
|-------------------------------------|

Nome completo:

2. ID: \_\_\_\_\_

Sexo:

3. SEXO: ( ) M ( ) F

Data de Nascimento:

4.

DN: \_\_\_\_\_

5. IDADE: \_\_\_\_\_

Endereço:

Telefone:

Raça autorreferida

6. RAÇA:

( ) Branca

( ) Morena

|   |   |
|---|---|
|   | <input type="checkbox"/> Parda<br><input type="checkbox"/> Negra<br><input type="checkbox"/> Amarela<br><input type="checkbox"/> Indígena |
| Vínculo do informante com o paciente (se for o caso):   |   |
| Escolaridade (em anos completos)  | 7. ESCOL.: _____  |
| Renda familiar (total em reais)   | 8. RENDA:<br>_____  |
| Número de pessoas que habitam em casa: _____  |   |
| Número de pessoas que fazem as refeições em casa: _____   |   |
| <b>DADOS DE SAÚDE E FUNCIONALIDADE</b>  |   |
| Pontuação da avaliação das Atividades de Vida Diária, segundo Pfeffer   | 9. AVD: _____   |
| Funcionalidade  | 10. FUNC.:<br><input type="checkbox"/> Robusto<br><input type="checkbox"/> Em risco   |
| Fragilidade (3 ou mais 5 critérios)<br><br>1. Perda de peso não intencional de 4,5 kg ou 5% do peso corporal no último ano;<br><br>2. Fadiga autorreferida;<br><br>3. Diminuição da força de preensão medida com um dinamômetro na mão dominante;<br><br>4. Baixo nível de atividade física medido pelo dispêndio semanal de energia em kcal;<br><br>5. Diminuição da velocidade da marcha em segundos. | 11. FRAGILIDADE<br><br><input type="checkbox"/> Não<br><input type="checkbox"/> Sim   |
| Classificação SARC-F  | 12. SARC-F:<br><br><input type="checkbox"/> Sem Sinais Sugestivos de Sarcopenia<br><br><input type="checkbox"/> Sugestivo de Sarcopenia   |

|   |   |
|---|---|
| Possui Doenças/Comorbidades:  | 13. COMORBIDADES:<br><br><input type="checkbox"/> Não<br><br><input type="checkbox"/> Sim                                     |
| Quais Doenças/Comorbidades:   | 14. N° DE COMOR: _____  |
| Faz uso de fármacos?  | 15. FÁRMACOS:<br><br><input type="checkbox"/> Não<br><br><input type="checkbox"/> Sim   |
| Quais fármacos:   | 16. N° DE FARM: _____   |
| Tabagismo<br><br>Há quanto tempo: _____<br><br>Quantos cigarros por dia: _____  | 17. TABAGISMO:<br><br><input type="checkbox"/> Não<br><br><input type="checkbox"/> Sim  |
| Etilismo<br><br>Há quanto tempo: _____<br><br>Tipo de bebida alcoólica:<br>_____<br><br>Frequência do consumo:<br>_____ | 18. ETILISMO:<br><br><input type="checkbox"/> Não<br><br><input type="checkbox"/> Sim<br><br>19. ML/DIA BEBIDA<br>ALC.: _____ |
| Pontuação MEEM  | 20. MEEM: _____   |
| Exames bioquímicos:   |   |

|   |   |
|---|---|
| <p>Uso atual de suplementos nutricionais<br/>(vitamínicos/minerais/proteicos)</p> | <p>21.<br/>SUP.NUTRICIONAL</p> <p><input type="checkbox"/> Não</p> <p><input type="checkbox"/> Sim</p>  |
| <p>Uso de Vitamina D</p> <p>Dose (UI): _____</p>                                  | <p>22. USA VIT.D.:</p> <p><input type="checkbox"/> Não</p> <p><input type="checkbox"/> Sim</p> <p>23. DOS.DIA (UI):<br/>_____</p>   |
| <p>Uso de Vitamina B12</p>  | <p>24. USA VIT.B12:</p> <p><input type="checkbox"/> Não</p> <p><input type="checkbox"/> Sim</p> <p>25. FREQ.DO USO:</p> <p><input type="checkbox"/> Diário</p> <p><input type="checkbox"/> 1x semana</p> <p><input type="checkbox"/> 1x mês</p> <p><input type="checkbox"/> 1x a cada 6 meses</p> |
| <p>Uso de Cálcio</p>  | <p>26. USA CÁLCIO.:</p> <p><input type="checkbox"/> Não</p> <p><input type="checkbox"/> Sim</p> <p>27. DOS.DIA (mg):<br/>_____</p>  |
| <p>Outros suplementos:</p>  |   |
| <p>Prática de Atividade física</p>  | <p>28. PRÁTICA AF:</p>  |

|   |   |
|---|---|
|   | <input type="checkbox"/> Não<br><input type="checkbox"/> Sim<br>29. QUAL AF:<br><input type="checkbox"/> Atividade do lar<br><input type="checkbox"/> Jardinagem<br><input type="checkbox"/> Carpinteiro/pedreiro<br><input type="checkbox"/> Serviços domésticos<br>+ jardinagem<br><input type="checkbox"/> Anda<br><input type="checkbox"/> Outros                   |
| <p>Prática de Exercício Físico.</p> <p>Avaliar a intensidade por presença de sudorese e alteração na frequência cardiorrespiratória).</p> | 30. PRÁTICA EF:<br><input type="checkbox"/> Não<br><input type="checkbox"/> Sim<br>31. QUAL EF:<br><input type="checkbox"/> Aeróbico<br><input type="checkbox"/> Anaeróbico<br><input type="checkbox"/> Misto<br>32. MIN/SEMANA:<br>_____<br>33. INTENSIDADE:<br><input type="checkbox"/> Leve<br><input type="checkbox"/> Moderada<br><input type="checkbox"/> Intensa |

|  |                       |
|--|-----------------------|
| Quantidade de horas no dia sentado ou deitado (exceto no sono)   | 34. HORAS/DIA: _____  |
| <b>ANAMNESE ALIMENTAR</b>  |                       |
| Quantidade de água que bebe por dia (ml)   | 35. ÁGUA/DIA: _____   |
| Óleos e gorduras para o preparo das refeições em casa: ( ) Banha de porco ( ) Toucinho ( ) Azeite de oliva |                       |
| Óleo vegetal: ( ) Soja ( ) Milho ( ) Girassol ( ) Canola ( ) Outro: _____                                  |                       |
| Óleo vegetal: _____  | Quantidade: _____     |
| Duração: _____   |                       |
| Outro óleo vegetal: _____  | Quantidade: _____     |
| Duração: _____   |                       |
| Banha de porco: _____  | Quantidade: _____     |
| Duração: _____   |                       |
| Toucinho de porco: _____   | Quantidade: _____     |
| Duração: _____   |                       |
| Azeite de oliva: _____   | Quantidade: _____     |
| Duração: _____   |                       |
| Quantidade consumida de óleo e/ou gordura por dia (ml ou mg)   | 36. ÓLEO/DIA: _____   |
| Açúcar gasto em casa:  | 37. AÇÚCAR/DIA: _____ |
| Quantidade: _____  |                       |
| Duração: _____   |                       |
| Quantidade consumida de açúcar por dia (mg)  |                       |

|  |   |
|--|---|
| <p>Sal gasto em casa:</p> <p>Quantidade: _____ Duração: _____</p> <p>Quantidade consumida de sal por dia (mg)</p>  | <p>38. SAL/DIA: _____</p>   |
| <p>Uso de temperos industrializados</p> <p>( ) Não ( ) Sim</p> <p>Quais: _____</p> <p>_____</p> <p>Quantidade: _____ Duração: _____</p> <p>_____</p> <p>Quantidade consumida de tempero industrializado por dia (mg)</p> | <p>39. USA<br/>TEMP.INDUS.:</p> <p>( ) Não</p> <p>( ) Sim</p> <p>40. TEMP.INDUS./DIA: _____</p> |
| <b>CAPACIDADE FÍSICA</b>   |   |
| <p>Maior Força de prensão palmar</p>   | <p>41. FORÇA MÃOD: _____</p>  |
| <p>Pontuação pés lado a lado</p>   | <p>42. FORÇA MÃOE: _____</p> <p>43. PÉS LADO A LADO: _____</p>                                  |
| <p>Pontuação Semi Tandem</p>   | <p>44. SEMI TANDEM: _____</p>   |
| <p>Pontuação Tandem</p>  | <p>45. TANDEM: _____</p>  |
| <p>Velocidade de marcha</p>  | <p>46. TEMPO (M/S): _____</p> <p>47. PONTUAÇÃO: _____</p>                                       |

|  |  |
|--|--|
| Pontuação teste da cadeira   | 48. FORÇA MMII:<br>_____                         |
| Pontuação SPPB   | 49. SPPB: _____                                  |
| <b>ANTROMETRIA</b>   |  |
| Peso Habitual (kg)   | 50. PESOHAB.: _____                              |
| Perda de peso não intencional recente                              | 51. PERDAPESO:<br>( ) Não                        |
| Tempo da perda de peso (meses)                                     | ( ) Sim  |
| Perda significativa de 4,5 kg ou 5% do peso corporal no último ano | 52. TEMPOPERDA:<br>_____                         |
|  | 53. PERDASIGN:<br>( ) Não                        |
|  | ( ) Sim  |
| Peso atual (kg)  | 54. PESO: _____<br>( ) Aferido<br>( ) Estimado   |
| Altura (cm)  | 55. ALTURA: _____<br>( ) Aferida<br>( ) Estimada |
| IMC (kg/m <sup>2</sup> )   | 56. IMC (kg/m <sup>2</sup> ):<br>_____           |
| Perímetro de braço (cm)  | 57. PB: _____                                    |
| Perímetro de panturrilha (cm)                                      | 58. PP (D): _____<br>PP (E): _____               |
| Perímetro de cintura (cm)  | 59. PC: _____                                    |
| Altura do Joelho (cm)  | 60. AJ: _____                                    |
| Dobra cutânea bicipital (mm)                                       | 61. DCB: _____                                   |
| Dobra cutânea tricipital (mm)                                      | 62. DCT: _____                                   |

|                                 |   |
|---------------------------------|---|
| Dobra cutânea subescapular (mm) | 63. DCSE: _____                           |
| Dobra cutânea suprailíca (mm)   | 64. DCSI: _____                           |
| Soma das sobras (mm)            | 65. SOMA: _____                           |
| <b>Obs:</b>                     | Possui Edema: ( ) Sim                     |
| Local (is):                     | ( ) Não                                   |
| Bioimpedância                   | 66. RESIST. (R):<br>_____                 |
|                                 | 67. REACT. (XC):<br>_____                 |
|                                 | 68. GORD. (KG):<br>_____                  |
|                                 | 69. M.MAGRA (KG):<br>_____                |
|                                 | 61. % GORDURA:<br>_____                   |
|                                 | 62. ÁGUA (L): _____                       |
|                                 | 63. % ÁGUA: _____                         |
|                                 | 64. TMB (kcal):<br>_____                  |
| Calorimetria                    | 65. TMB (kcal):                           |
| Somente para <b>Reavaliação</b> | 66. Hospitalização:<br>( ) Não<br>( ) Sim |
|                                 | 67. Tempo de internação<br>(dias): _____  |

|  |  |
|--|--|
|  | <p>68. Queda (com ou sem fratura):</p> <p>( ) Não</p> <p>( ) Sim</p> |
|--|--|

## APÊNDICE C – Ficha de registro alimentar



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

HOSPITAL DAS CLÍNICAS

NUCLEO DE GERIATRIA E GERONTOLOGIA



### ATENÇÃO NUTRICIONAL AO IDOSO

Nome:

---

Data da consulta com a nutricionista: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_

### FICHA DE REGISTRO ALIMENTAR

Orientações para preenchimento:

- Deverá ser feito o registro alimentar de 3 dias NÃO consecutivos, incluindo um do final de semana (Ex: Segunda, quarta e sábado).
- Não realizar o registro alimentar quando estiver doente.
- Você deve anotar todo alimento consumido no dia, incluindo bebidas, lanches ou temperos. Beliscos também precisam ser anotados
- Anotar os alimentos em todas as refeições. Caso não tenha realizado alguma refeição anotar: NENHUM ALIMENTO CONSUMIDO.
- Faça o registro logo após cada refeição, pois assim, você não esquecerá nada.
- Além de anotar o alimento, você deve anotar a forma de preparo. Por exemplo: bife frito, frango cozido no molho.

- 
- Além da forma de preparo deverá também anotar detalhes como: com casca ou sem casca, frango com pele ou sem pele, carne com gordura ou sem gordura, leite desnatado ou integral, queijo curado ou fresco etc.
- Caso o alimento seja industrializado (biscoitos, salgadinhos ..) escreva a marca.
- Os alimentos deverão ser quantificados em medidas caseiras; ex: **colher** (de sopa, sobremesa, chá, café); **copo** (de requeijão, americano ou pequeno); **xícara** (de chá ou café); **escumadeira** (grande, média ou pequena); **concha** (grande, média ou pequena); **prato** (fundo, raso ou sobremesa). Outras medidas, ex: uma folha de alface (média, grande ou pequena), um tomate ou rodelas (grande, média ou pequena); frutas (grande, média ou pequena).

### REGISTRO ALIMENTAR 1

Data: \_\_\_\_/\_\_\_\_/202\_\_

Dia da Semana:

\_\_\_\_\_

Preenchido

por:

\_\_\_\_\_

| Refeição                   | Alimento consumido | Quantidade |
|----------------------------|--------------------|------------|
| Café da manhã<br><br>Hora: |                    |            |
| Lanche<br><br>Hora:        |                    |            |

|                 |  |  |
|-----------------|--|--|
|                 |  |  |
| Almoço<br>Hora: |  |  |
| Lanche<br>Hora: |  |  |
| Jantar<br>Hora: |  |  |
| Ceia<br>Hora:   |  |  |

**Beliscos no dia:**

---



---

**Alguma observação que você considera importante:**

---



---

## REGISTRO ALIMENTAR 2

Data: \_\_\_/\_\_\_/202\_

Dia da Semana:

---

Preenchido

por:

---

| <b>Refeição</b>            | <b>Alimento consumido</b> | <b>Quantidade</b> |
|----------------------------|---------------------------|-------------------|
| Café da manhã<br><br>Hora: |                           |                   |
| Lanche<br><br>Hora:        |                           |                   |
| Almoço<br><br>Hora:        |                           |                   |

|                 |  |  |
|-----------------|--|--|
|                 |  |  |
| Lanche<br>Hora: |  |  |
| Jantar<br>Hora: |  |  |
| Ceia<br>Hora:   |  |  |

**Beliscos no dia:**

---

---

**Alguma observação que você considera importante:**

---

---

**REGISTRO ALIMENTAR 3**

Data: \_\_\_\_/\_\_\_\_/202\_

Dia da Semana:

Preenchido

por:

---

| <b>Refeição</b>        | <b>Alimento consumido</b> | <b>Quantidade</b> |
|------------------------|---------------------------|-------------------|
| Café da manhã<br>Hora: |                           |                   |
| Lanche<br>Hora:        |                           |                   |
| Almoço<br>Hora:        |                           |                   |

|                 |  |  |
|-----------------|--|--|
| Lanche<br>Hora: |  |  |
| Jantar<br>Hora: |  |  |
| Ceia<br>Hora:   |  |  |

**Beliscos no dia:**

---

---

**Alguma observação que você considera importante:**

---

---

---

---

## APÊNDICE D – Orientações para a coleta de urina de 24h

### ORIENTAÇÕES PARA COLETA DE URINA DE 24 HORAS

1. Ao acordar, às \_\_\_\_\_ horas, urinar no vaso sanitário, desprezando a primeira urina do dia, esvaziando toda a bexiga;

**ATENÇÃO:** A contagem das 24 horas começa ao esvaziar a bexiga. A primeira urina marca o horário de início da coleta e não pode ser armazenada no frasco;

2. A partir desse momento, toda vez que urinar, durante o resto do dia e da noite, recolher toda a urina de cada micção, colocando-a no frasco de coleta. Durante cada micção, o frasco deverá ser armazenado bem fechado e guardado em refrigerador, durante todas as 24 horas de coleta;

3. Na manhã seguinte, deve-se coletar toda a urina contida na bexiga e encerrar a coleta às \_\_\_\_ horas (no mesmo horário em que foi desprezada a primeira urina do dia anterior). Tentar esvaziar toda bexiga um pouco antes do horário de término, para não ultrapassar as 24 horas;

4. Não coletar no frasco nenhuma urina após as 24 horas;

**ATENÇÃO:** É importante respeitar o horário de término, pois se a última amostra de urina for coletada em horário diferente, o tempo de coleta não será de 24 horas.

5. Durante as 24 horas de coleta, a ingestão de líquidos, alimentação, uso de medicação e a rotina diária, devem ser mantidos;

6. Manter a urina a refrigerada até o momento da sua entrega no ambulatório Jenny Faria.

### **IMPORTANTE**

- É fundamental que seja entregue TODA a amostra da urina de 24 horas;
- Não esquecer de coletar nenhuma micção;
- Caso aconteça, interromper a coleta e iniciá-la novamente no dia seguinte. Qualquer erro nesta coleta, implicará em erro nos resultados;
- Antes de tomar banho e evacuar, procurar urinar e armazenar a urina no frasco;
- Não urinar durante o banho e durante a evacuação;
- Se sair de casa, urinar e coletar a urina no frasco antes de sair e urinar somente quando voltar, para coletar a urina novamente;
- É recomendada a higiene local antes de cada coleta:

#### Homens

1. Lavar as mãos;
2. Lavar todo o pênis apenas com bastante água, e não utilizar sabonete;
3. Enxaguar e secar com toalha limpa.

#### Mulheres

1. Lavar as mãos;
2. Lavar a região genital de frente para trás, apenas com bastante água, e não utilizar sabonete;
3. Secar com toalha limpa sem fazer movimentos para frente e para trás.

**Dúvidas e informações:** Camila 31 986258662

**Referência Bibliográfica:** Sociedade Brasileira de Patologia Clínica e Medicina Laboratorial. Recomendações da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial (SBPC/ML). 6. Coleta e Preparo da Amostra Biológica, pág 66-69. Barueri, SP: Manole: Minha Editora, 2014.

**APÊNDICE E– Ficha de resultados de exames: biomarcadores séricos e urinários, DEXA,  
teste de marcha e força de preensão palmar**



INSTITUTO JENNY DE ANDRADE FARIA



AMBULATÓRIO ENVELHECIMENTO SAUDÁVEL

**Estudo: Perfil de minerais de idosos e relação com o envelhecimento  
saudável**

Agradecemos a sua participação no nosso estudo e nos colocamos a disposição para quaisquer

Nome:

Data da realização do exame:

**RESULTADOS DE EXAMES – SANGUE E URINA**

| <b>Exame material sangue</b>        | <b>Valor de referência</b> | <b>Valor encontrado</b> |
|-------------------------------------|----------------------------|-------------------------|
| Cálcio (mg/dl)                      | 8,5 a 10,2 mg/dL           |                         |
| Cobre eritrocitário (RBC/µg/dl)     | 30,5-132,2 ug/dL           |                         |
| Cobre plasmático (µg /dl)           | 64-159 ug/dL               |                         |
| Ferro (µg /dL)                      | 56-168 ug/dL               |                         |
| Magnésio eritrocitário (mmol/l)     | 1,65 a 2,65 mmol/L         |                         |
| Magnésio plasmático (mmol/l)        | 0,57 a 0,91 mmol/L         |                         |
| Manganês (µg /l)                    | 3,50 a 9,2 ug/L            |                         |
| Selênio plasmático (µg /dl)         | 80 a 95 µg/L               |                         |
| Selênio eritrocitário (RBC/ µg /dl) | 0,18 a 0,55 µg/gHb         |                         |
| Zinco eritrocitário (RBC µg /gHb)   | 40-44 ugZn/g Hb            |                         |
| Zinco plasmático (µg /dl)           | 75-110 ug/dL               |                         |
| <b>Exame material urina</b>         |                            | <b>Valor encontrado</b> |
| Cálcio iônico (mmol/l)              | até 1,5 mmol/L             |                         |
| Cobre (µg /24 h)                    | 200 a 500 ug/24h           |                         |

|                     |                      |  |
|---------------------|----------------------|--|
| Creatinina 24hs (g) | 0,63 a 2,50 g/24h    |  |
| Magnésio (mmol/24h) | 3,00 a 5,00 mmol/24h |  |
| Manganês (µg /dl)   | 0,12 a 1,9 ug/dL     |  |
| Selênio (µg /ml)    | 0,014 a 0,038 ug/mL  |  |
| Zinco (µg /24h)     | 300 a 600 ug Zn/24 h |  |

**Análise dos resultados:**

Assinatura do profissional

**Estudo: Perfil de minerais de idosos e relação com o envelhecimento saudável**

**RESULTADOS DE EXAMES – DENSITOMETRIA**

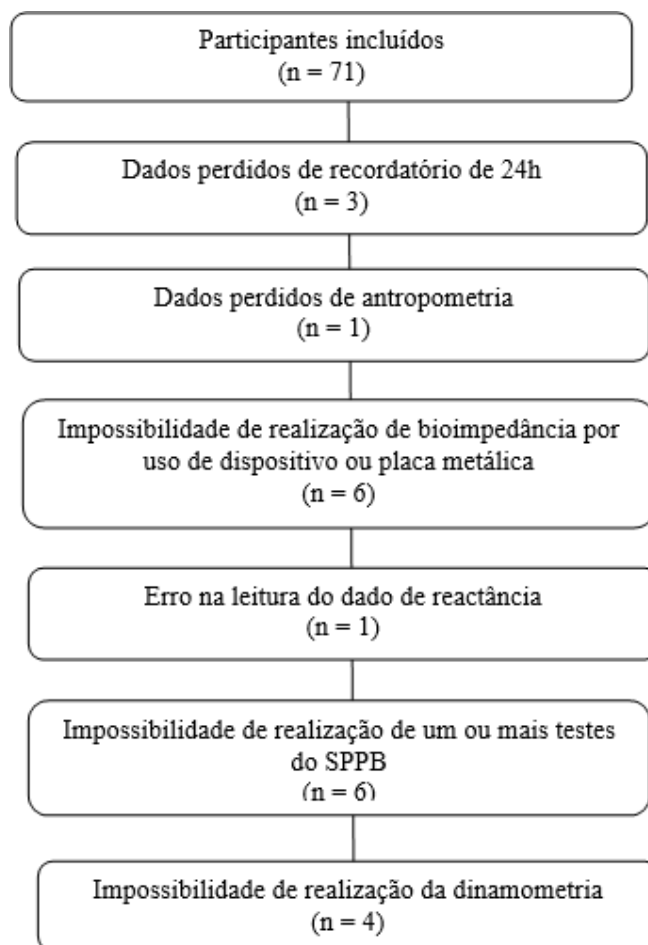
| <b>Peso:</b>  | <b>Altura:</b>                         |                         |
|---|--|-------------------------|
| <b>DENSITOMETRIA – CORPO TOTAL</b>                                  |  |                         |
| <b>Parâmetro</b>  | <b>Valor referência</b>                | <b>Valor encontrado</b> |
| Gordura Total (kg)  | ---                                    |                         |
| Gordura total (%)   | ---                                    |                         |
| Massa Magra (kg)  | ---                                    |                         |
| Massa muscular esquelética apendicular (kg)                         | Homens<br>≥ 20<br><br>Mulheres<br>≥ 15 |                         |
| MMA/A <sup>2</sup> (kg/m <sup>2</sup> )                             | Homens<br>≥ 7<br><br>Mulheres<br>≥ 5,5 |                         |
| Densidade mineral óssea total (g/cm <sup>2</sup> ) DMO <sub>T</sub> | ≥ - 1,0<br>DP                          |                         |

**RESULTADOS DO TESTE DE MARCHA E DE FORÇA**

| <b>Parâmetro</b>                | <b>Valor referência</b>            | <b>Valor encontrado</b> |
|---------------------------------|------------------------------------|-------------------------|
| Velocidade de marcha (4 metros) | > 0,8 m/s                          |                         |
| Força de aperto de mão          | Homens ≥ 27 kg<br>Mulheres ≥ 16 kg |                         |

**Análise dos resultados**

Assinatura do profissional

**APÊNDICE F – Fluxograma de dados perdidos ou não coletados**

**APÊNDICE G - Cartaz de divulgação do projeto de pesquisa para seleção de voluntários**



# SELEÇÃO DE IDOSOS PARA PESQUISA SOBRE NUTRIÇÃO DA UFMG

**CONHECE ALGUÉM COM MAIS DE 80 ANOS E FUNCIONALIDADE PRESERVADA? CONVIDE-O PARA PARTICIPAR!**

**Projeto: “Perfil de minerais de idosos e suas correlações com o envelhecimento saudável”.**

Os interessados em participar podem entrar em contato com a Camila pelo número 31 98625-8662 ou e-mail [camila.dnr@hotmail.com](mailto:camila.dnr@hotmail.com)

**Local: LABORATÓRIO DE AVALIAÇÃO NUTRICIONAL - Escola de Enfermagem UFMG**  
 Av. Prof. Alfredo Balena, 190 - Santa Efigênia, BH  
 Às quartas de manhã!

Avaliação nutricional e orientações nutricionais serão realizadas.





## ANEXOS

**ANEXO A – Parecer consubstanciado do Comitê de ética em pesquisa da  
UFMG**

UNIVERSIDADE FEDERAL DE  
MINAS GERAIS



**PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP**

**DADOS DA EMENDA**

**Título da Pesquisa:** Perfil de minerais de idosos e relação com o envelhecimento saudável

**Pesquisador:** ANN KRISTINE JANSEN

**Área Temática:**

**Versão:** 2

**CAAE:** 85566218.0.0000.5149

**Instituição Proponente:** UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

**Patrocinador Principal:** Financiamento Próprio

**DADOS DO PARECER**

**Número do Parecer:** 5.329.785

**Apresentação do Projeto:**

Trata-se de um estudo da grande área Ciências da Saúde, delineamento observacional, abordagem quantitativa, analítico, tipo coorte aberta prospectivo concorrente, para analisar os muito idosos robustos e centenários atendidos no Ambulatório de Atenção Multiprofissional ao Idoso Robusto e em Risco de Fragilização, do Serviço de Geriatria e Gerontologia do Hospital das Clínicas-UFMG/Ebserh. A nutrição é reconhecida como tendo um impacto importante na morbidade e mortalidade geral e seu papel na extensão da expectativa de vida tem sido objeto de extensa pesquisa científica. Vários nutrientes têm sido estudados, no entanto, estudos avaliando o estado nutricional de minerais são mais escassos. A hipótese apresentada afirma que o envelhecimento saudável e/ou longo correlaciona-se com a manutenção do estado nutricional de minerais no organismo, refletindo-se no consumo de alimentos fonte e manutenção de níveis recomendados para os seus biomarcadores. Serão incluídos na pesquisa idosos com 80 anos ou mais, de ambos os sexos classificados nos estratos 1 a 3 (idosos robustos), de acordo com a Classificação Clínico-Funcional dos Idosos, cuja representação gráfica é a Escala Visioanalógica de Fragilidade (Visual Scale of Frailty) desenvolvida no Serviço de Geriatria da UFMG e idosos centenários, de ambos os sexos, independente do estrato clínico funcional. Não poderão participar do estudo os idosos sarcopênicos na linha de base, diabéticos, alcoolistas crônicos, PTH elevado, em uso de diuréticos de alça (furosemida), digitálicos, e ácido valpróico e idosos muito idosos em risco de fragilização ou frágeis na linha de base. Assim, a amostra estabelecida por conveniência será composta por

**Endereço:** Av. Presidente Antonio Carlos, 6627 2º. Andar 2 Sala 2005 2 Campus Pampulha

**Bairro:** Unidade Administrativa II **CEP:** 31.270-901

**UF:** MG **Município:** BELO HORIZONTE

**Telefone:** (31)3409-4592 **E-mail:** coep@prpq.ufmg.br

Continuação do Parecer: 5.329.785

100 idosos com 80 anos ou mais, robustos e os centenários independentes do extrato funcional, que poderão entrar para a coorte do estudo durante os dois primeiros anos. O estudo irá acompanhar os participantes pelo período de 02 anos e estes deverão se submeter a avaliações semestrais. O convite para participar da pesquisa será feito durante a primeira consulta de nutrição do idoso no Serviço de Geriatria e Gerontologia do Hospital das Clínicas-UFGM/Ebserh. Os dados a serem coletados na linha de base serão os demográficos, sócio- econômicos, clínicos, antropométricos, de força de preensão palmar, da capacidade física, de composição corporal, de consumo alimentar, e bioquímicos que fazem parte da rotina do atendimento do ambulatório e serão coletados diretamente dos prontuários dos idosos, no mesmo momento da entrada do idoso para o projeto. Para a linha de base da pesquisa será coletada uma amostra de 20 ml sangue pelo laboratório do Instituto Jenny de Andrade Faria, por profissional técnico em enfermagem. Também será coletada uma amostra de urina de 24 horas para análise dos minerais. O idoso será orientado verbalmente e por escrito, quanto à metodologia para coleta da urina. Após a finalização da coleta, o idoso ou familiar deverá entregar o frasco no Serviço de Geriatria do Instituto Jenny de Andrade Faria, para um membro da equipe de pesquisa que encaminhará a amostra de urina para análise nos laboratórios da Embrapa, parceiro do projeto. Nas reavaliações semestrais serão coletados os dados antropométricos, de força de preensão palmar, de capacidade física, de consumo alimentar, biomarcadores de minerais e os desfechos: Alteração na funcionalidade, presença de sarcopenia, presença e duração total de hospitalizações ocorridas no período, presença de quedas ocorridas no período, novas comorbidades no período, alteração da capacidade física, alteração da função cognitiva e presença de óbito e causa.

#### **Objetivo da Pesquisa:**

##### **Objetivo Primário:**

Estudar os biomarcadores de minerais em idosos muito idosos e centenários e correlacionar estes biomarcadores com envelhecimento saudável.

##### **Objetivo Secundário**

Estudar os biomarcadores de magnésio, selênio, cálcio, zinco, cobre, manganês, sódio, potássio e ferro e sua relação com desfechos clínicos em idosos muito idosos robustos e centenários. Estudar o consumo alimentar e sua relação com biomarcadores de magnésio, selênio, cálcio, zinco, cobre manganês, sódio, potássio e ferro em idosos muito idosos e centenários.

#### **Avaliação dos Riscos e Benefícios:**

As pesquisadoras e pesquisadores informam que não haverá mudança na rotina de acompanhamento ambulatorial dos idosos. Os riscos os(as) participantes serão submetidos são

**Endereço:** Av. Presidente Antonio Carlos, 6627 2º Andar Sala 2005 2 Campus Pampulha  
**Bairro:** Unidade Administrativa II **CEP:** 31.270-901  
**UF:** MG **Município:** BELO HORIZONTE  
**Telefone:** (31)3409-4592 **E-mail:** coep@prpq.ufmg.br

Continuação do Parecer: 5.329.785

aqueles inerentes ao processo assistencial, que não é o objetivo da pesquisa. Para a coleta de sangue, o idoso deverá ficar em jejum de 8 horas, o que pode causar tonteira, além de estresse. A coleta de sangue pode provocar dor, pequenos sangramentos ou hematomas. Para minimizar o desconforto, a coleta será realizada em laboratório próprio para coleta de material biológico, localizado no primeiro andar do Instituto Jenny de Andrade Faria, por equipe treinada e com materiais estéreis e descartáveis.

Como benefícios aponta-se que para os idosos, participantes da pesquisa, o estudo permitirá o monitoramento de minerais que usualmente não são avaliados por não serem da rotina do atendimento do ambulatório. Este monitoramento permitirá intervir precocemente, em eventuais desvios, e evitar a instalação de uma deficiência mineral mais grave, evitando o desenvolvimento de quadros silenciosos. Ao estudar os minerais e sua relação com longevidade, o estudo contribuirá para compreender o binômio: dieta & longevidade, corroborando no desenvolvimento científico beneficiando indiretamente a sociedade.

#### **Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:**

Trata-se de uma emenda ao Protocolo de Pesquisa, aprovado em 2018, para a inclusão na metodologia de avaliação da necessidade calórica dos idosos calórico por meio da calorimetria indireta (CI). Este é um método não-invasivo que determina as necessidades calóricas e a taxa de utilização dos substratos energéticos por meio do consumo de oxigênio e produção de gás carbônico através da análise do ar inspirado e expirado pelos pulmões. Apresentam como justificativa da inclusão deste método no estudo o fato desta ser uma metodologia inovadora de aferição da demanda energética em indivíduos maiores de 80 anos que se correlaciona aos demais dados coletados, como, por exemplo, o consumo alimentar (3 registros alimentares). Considerando a escassez de dados e de fórmulas para estimativa de necessidades calóricas em idosos longevos, a CI representa uma alternativa para avaliação objetiva da necessidade calóricas dessa população, além de auxiliar na validação de outros métodos mais acessíveis, como fórmulas. Para além, o método em questão é considerado padrão ouro para este fim. Avaliam que os riscos previstos para essa nova etapa são mínimos aos participantes. O teste possui duração média de 15 minutos, requer, anterior a avaliação, repouso de 30 minutos e jejum de 2-3 horas. Para tanto, o procedimento será realizado no mesmo dia da coleta de sangue, aproveitando o momento de jejum. A medição pelo equipamento deve ocorrer em decúbito dorsal, em ambiente silencioso, com pouca iluminação e temperatura confortável. Após o repouso de 30 minutos, uma máscara será confortavelmente ajustada ao rosto do voluntário e conectada ao calorímetro. Durante a aferição o voluntário permanecerá em decúbito dorsal sem se movimentar, respirando

**Endereço:** Av. Presidente Antonio Carlos, 6627 2º Andar Sala 2005 Campus Pampulha  
**Bairro:** Unidade Administrativa II **CEP:** 31.270-901  
**UF:** MG **Município:** BELO HORIZONTE  
**Telefone:** (31)3409-4592 **E-mail:** coep@prpq.ufmg.br

Continuação do Parecer: 5.329.785

naturalmente. a fim de assegurar total segurança dos participantes, a máscara e mangueira/tubo são de material totalmente higienizável, em duas etapas, limpeza e desinfecção. Apresenta TCLE modificado para a inclusão da solicitação do exame de calorimetria, mas foram identificadas várias inadequações relacionadas abaixo nas diligências. O Protocolo não apresenta termo de biorrepositório, vamos solicitar o Termo para regularizar a situação do Protocolo uma vez que a Resolução No 441 CNS é de 2011. Na leitura do documento apresentando a emenda, não fica explícito como será a inclusão do novo exame, em quais participantes será feito, uma vez que o projeto tem 04 anos de desenvolvimento, encerrando em 2023. Não foi informado se continuam captando participantes. Não foi identificada a submissão de nenhum RELATÓRIO PARCIAL sobre o andamento do Protocolo, dessa forma não se sabe quantos idosos participam do projeto, perdas, solicitações descontinuidade da participação, resultados parciais.

**Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:**

Foram apresentados: 1. PB\_INFORMAÇÕES\_BÁSICAS\_1897906\_E1.pdf- com justificativa para emenda; 2. Ficha\_Resultado\_de\_Exames\_Projeto\_Minerais.pdf – para o registros dos resultados dos exames de sangue e urina; 3. POP\_higienizacao\_calorimetria\_indireta.pdf; 4. Check\_list Controle\_processo\_desinfeccao\_Calorimetria.pdf; 5. 85566218parecer.pdf (2 anexos) – Parecer aprovando o Protocolo em 2018; 6. 85566218aprovacao.pdf (2 anexos) – documento aprovando o Protocolo; 7. Parecer\_HC\_UFMG.pdf – aprovação do Protocolo pela GEPE; 8. Parecer\_Unidade\_Funcional\_HC\_UFMG.pdf – aprovação da Chefia da Unidade de gestão do Atendimento Ambulatorial HC/UFGM/Ebserh; 9. Projeto\_de\_Pesquisa\_Minerais.pdf – Projeto brochura; 8; ParecerNUT.pdf – Parecer da Câmara Departamental da Nutrição; 10. Folha\_de\_Rosto.pdf – assinada pela Diretora da Escola de Enfermagem; 11 Termo\_Consentimento\_Livre\_Esclarecido\_Emenda.pdf – revisado; Emenda\_projeto\_pesquisa.pdf – apresentando a inclusão de novo exame à metodologia do Protocolo.

**Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:**

SMJ, somos de parecer que a Emenda seja mantida em diligência.

1. Solicita-se o melhor detalhamento de como a inclusão do novo exame ocorrerá. Não está explícito no documento que justifica a emenda quem serão os participantes que farão o exame de calorimetria. Como não foi apresentado o Relatório Parcial do estudo não se sabe quantos participantes estão envolvidos com o estudo, quantos acompanhamentos foram descontinuados. Recomenda-se fortemente a apresentação do relatório parcial do estudo.
2. Solicita-se a apresentação do Termo de Biorrepositório conforme Resolução CNS No 411, 12 maio 2011, considerando a coleta de sangue e urina para exames relacionados com a pesquisa.

**Endereço:** Av. Presidente Antonio Carlos, 6627 2º. Andar 2 Sala 2005 2 Campus Pampulha  
**Bairro:** Unidade Administrativa II **CEP:** 31.270-901  
**UF:** MG **Município:** BELO HORIZONTE  
**Telefone:** (31)3409-4592 **E-mail:** coep@prpq.ufmg.br

Continuação do Parecer: 5.329.785

Informar no TCLE sobre o local de armazenamento do material biológico coletado e de quando e a forma de descarte desse material. Salienta-se que o TCLE apresentado informar sobre o armazenamento dos dados e sobre a destruição desses. Informar que o material biológico coletado será usado só para esta pesquisa.

3. Solicita-se a apresentação do Relatório Parcial.

4. Adequações do TCLE

a. Ordenar o TCLE, iniciando com a apresentação da pesquisa: objetivo em primeiro lugar (está no segundo parágrafo), depois falar dos procedimentos que o voluntário deverá participar; riscos e benefícios diretos e indiretos.

b. Descrever os procedimentos a que os participantes serão submetidos, além do nome do exame, detalhar como ele será feito, por ex. a necessidade de jejum, o tempo de duração dos exames. Informar ou diferenciar os exames de rotina daqueles que fazem parte da pesquisa. Usar linguagem adequada para informar sobre os exames, por ex., explicar o termo "bioimpedância", "necessidade calórica", "dados clínicos", entre outros.

c. Informar qual parte dos dados será obtida dos prontuários, explicitar quais dados serão obtidos dos prontuários.

d. Explicar se os resultados dos exames serão inseridos nos prontuários dos participantes.

e. Informar que medidas serão tomadas caso seja identificado algum problema de saúde a partir dos exames realizados.

f. Informar as medidas para redução ou eliminação dos riscos, por ex., em caso do surgimento de hematoma qual a procedimento será realizado para aliviar ou resolver este problema do participante.

g. Garantir que os participantes possam realizar um lanche após os exames, uma vez que esses exigem jejum prolongado.

h. Retirar a exigência do número do documento de identidade do TCLE, uma vez que este não é um contrato.

i. Informar o contato do CEP para que o participante possa procurá-lo em caso de dúvidas ou constrangimentos éticos.

j. Informar o contato do pesquisador responsável para que o participante possa procurá-la em caso de dúvida sobre a pesquisa.

Informamos que as adequações solicitadas estão de acordo com a Resolução No 466 do CNS, a

**Endereço:** Av. Presidente Antonio Carlos, 6627 2º. Andar 2 Sala 2005 2 Campus Pampulha  
**Bairro:** Unidade Administrativa II **CEP:** 31.270-901  
**UF:** MG **Município:** BELO HORIZONTE  
**Telefone:** (31)3409-4592 **E-mail:** coep@prpq.ufmg.br

UNIVERSIDADE FEDERAL DE  
MINAS GERAIS



Continuação do Parecer: 5.329.785

Resolução No 441 CNS. Salienta-se que as mesmas se coadunam com a evolução das decisões e ações do CEP que resolutamente buscam concretizar a garantia do direito dos participantes e a garantia de uma pesquisa cada vez mais ética.

**Considerações Finais a critério do CEP:**

De acordo com a Norma Operacional 01/2013, de 30 de setembro de 2013, o CEP aguarda a resposta até 30 (trinta) dias a partir da entrega deste parecer via Plataforma Brasil, para que o pesquisador atenda às pendências. Ao final deste prazo o projeto será arquivado. Solicita-se, ainda, que uma carta resposta seja enviada, via Plataforma Brasil, de forma ordenada, conforme os itens das considerações deste parecer, indicando-se também a localização das possíveis alterações no protocolo, inclusive no TCLE.

**Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:**

| Tipo Documento  | Arquivo   | Postagem               | Autor               | Situação |
|---|---|------------------------|---------------------|----------|
| Informações Básicas do Projeto                            | PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_1897906_E1.pdf                     | 12/02/2022<br>18:14:48 |                     | Aceito   |
| Outros  | Ficha_Resultado_de_Exames_Projeto_Minerais.pdf            | 12/02/2022<br>18:12:44 | ANN KRISTINE JANSEN | Aceito   |
| Outros  | POP_higienizacao_calorimetria_indireta.pdf                | 12/02/2022<br>18:12:23 | ANN KRISTINE JANSEN | Aceito   |
| Outros  | Check_list_Controlo_processo_desinfeccao_Calorimetria.pdf | 12/02/2022<br>18:12:08 | ANN KRISTINE JANSEN | Aceito   |
| TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência | Termo_Consentimento_Livre_Esclarecido_Emenda.pdf          | 12/02/2022<br>18:07:17 | ANN KRISTINE JANSEN | Aceito   |
| Outros  | Emenda_projeto_pesquisa.pdf                               | 12/02/2022<br>18:06:53 | ANN KRISTINE JANSEN | Aceito   |
| Outros  | 85566218parecer.pdf                                       | 12/04/2018<br>17:32:11 | Vivian Resende      | Aceito   |
| Outros  | 85566218parecer.pdf                                       | 12/04/2018<br>17:32:11 | Vivian Resende      | Aceito   |
| Outros  | 85566218aprovacao.pdf                                     | 12/04/2018<br>17:31:58 | Vivian Resende      | Aceito   |
| Outros  | 85566218aprovacao.pdf                                     | 12/04/2018<br>17:31:58 | Vivian Resende      | Aceito   |
| Declaração de Instituição e Infraestrutura                | Parecer_HC_UFGM.pdf                                       | 15/03/2018<br>16:23:00 | ANN KRISTINE JANSEN | Aceito   |
| Declaração de Instituição e                               | Parecer_Unidade_Funcional_HC_UFGM.pdf                     | 15/03/2018<br>16:19:37 | ANN KRISTINE JANSEN | Aceito   |

**Endereço:** Av. Presidente Antonio Carlos, 6627 2º. Andar 2 Sala 2005 2 Campus Pampulha

**Bairro:** Unidade Administrativa II **CEP:** 31.270-901

**UF:** MG **Município:** BELO HORIZONTE

**Telefone:** (31)3409-4592

**E-mail:** coep@prpq.ufmg.br

UNIVERSIDADE FEDERAL DE  
MINAS GERAIS



Continuação do Parecer: 5.329.785

|   |                                       |                        |                        |        |
|---|---------------------------------------|------------------------|------------------------|--------|
| Infraestrutura                                  | Parecer_Unidade_Funcional_HC_UFMG.pdf | 15/03/2018<br>16:19:37 | ANN KRISTINE<br>JANSEN | Aceito |
| Projeto Detalhado /<br>Brochura<br>Investigador | Projeto_de_Pesquisa_Minerais.pdf      | 15/03/2018<br>16:19:10 | ANN KRISTINE<br>JANSEN | Aceito |
| Outros  | ParecerNUT.pdf                        | 06/03/2018<br>10:24:01 | ANN KRISTINE<br>JANSEN | Aceito |
| Folha de Rosto                                  | Folha_de_Rosto.pdf                    | 06/03/2018<br>10:15:03 | ANN KRISTINE<br>JANSEN | Aceito |

**Situação do Parecer:**

Pendente

**Necessita Apreciação da CONEP:**

Não

BELO HORIZONTE, 04 de Abril de 2022

---

**Assinado por:**  
**Críssia Carem Paiva Fontainha**  
**(Coordenador(a))**

**Endereço:** Av. Presidente Antonio Carlos, 6627 2º Andar Sala 2005 Campus Pampulha  
**Bairro:** Unidade Administrativa II **CEP:** 31.270-901  
**UF:** MG **Município:** BELO HORIZONTE  
**Telefone:** (31)3409-4592 **E-mail:** coep@prpq.ufmg.br

**ANEXO B - Parecer de aprovação do projeto de pesquisa "Perfil de  
minerais de idosos e relação com o envelhecimento saudável" pelo  
Comitê de ética em pesquisa da UFMG**



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS  
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA - COEP

**Projeto: CAAE 85566218.0.0000.5149**

**Interessado(a): Profa. Ann Kristine Jansen  
Depto. Nutrição  
Escola de Enfermagem- UFMG**

O Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG – COEP aprovou, no dia 04 de abril de 2018, o projeto de pesquisa intitulado "**Perfil de minerais de idosos e relação com o envelhecimento saudável**" bem como o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

O relatório final ou parcial deverá ser encaminhado ao COEP um ano após o início do projeto através da Plataforma Brasil.

A handwritten signature in blue ink, reading "Vivian Resende".

Profa. Dra. Vivian Resende  
Coordenadora do COEP-UFMG



## **ANEXO D – Instruções aos autores – Revista Biological Trace Element Research**

Disponível em: <https://link.springer.com/journal/12011/submission-guidelines>

### **Manuscript Submission**

Submission of a manuscript implies: that the work described has not been published before; that it is not under consideration for publication anywhere else; that its publication has been approved by all co-authors, if any, as well as by the responsible authorities – tacitly or explicitly – at the institute where the work has been carried out. The publisher will not be held legally responsible should there be any claims for compensation.

### **Permissions**

Authors wishing to include figures, tables, or text passages that have already been published elsewhere are required to obtain permission from the copyright owner(s) for both the print and online format and to include evidence that such permission has been granted when submitting their papers. Any material received without such evidence will be assumed to originate from the authors.

### **Online Submission**

Please follow the hyperlink “Submit manuscript” and upload all of your manuscript files following the instructions given on the screen.

### **Source Files**

Please ensure you provide all relevant editable source files at every submission and revision. Failing to submit a complete set of editable source files will result in your article not being considered for review. For your manuscript text please always submit in common word processing formats such as .docx or LaTeX.

### **Submitting Declarations**

Please note that Author Contribution information and Competing Interest information must be provided at submission via the submission interface. Only the information submitted via the interface will be used in the final published version. Please make sure that if you are an

editorial board member and also a listed author that you also declare this information in the Competing Interest section of the interface.

Please see the relevant sections in the submission guidelines for further information on these statements as well as possible other mandatory statements.

## Title Page

Please make sure your title page contains the following information.

### **Title**

The title should be concise and informative.

### **Author information**

The name(s) of the author(s)

The affiliation(s) of the author(s), i.e. institution, (department), city, (state), country

A clear indication and an active e-mail address of the corresponding author

If available, the 16-digit [ORCID](#) of the author(s)

If address information is provided with the affiliation(s) it will also be published.

For authors that are (temporarily) unaffiliated we will only capture their city and country of residence, not their e-mail address unless specifically requested.

Large Language Models (LLMs), such as [ChatGPT](#), do not currently satisfy our [authorship criteria](#). Notably an attribution of authorship carries with it accountability for the work, which cannot be effectively applied to LLMs. Use of an LLM should be properly documented in the Methods section (and if a Methods section is not available, in a suitable alternative part) of the manuscript.

## Abstract

Please provide an abstract of 150 to 250 words. The abstract should not contain any undefined abbreviations or unspecified references.

*For life science journals only (when applicable)*

Trial registration number and date of registration for prospectively registered trials

Trial registration number and date of registration, followed by “retrospectively registered”, for retrospectively registered trials

### Keywords

Please provide 4 to 6 keywords which can be used for indexing purposes.

### Text

#### Text Formatting

Manuscripts should be submitted in Word.

Use a normal, plain font (e.g., 10-point Times Roman) for text.

Use italics for emphasis.

Use the automatic page numbering function to number the pages.

Do not use field functions.

Use tab stops or other commands for indents, not the space bar.

Use the table function, not spreadsheets, to make tables.

Use the equation editor or MathType for equations.

Save your file in docx format (Word 2007 or higher) or doc format (older Word versions).

### Headings

Please use no more than three levels of displayed headings.

### Abbreviations

Abbreviations should be defined at first mention and used consistently thereafter.

### Footnotes

Footnotes can be used to give additional information, which may include the citation of a reference included in the reference list. They should not consist solely of a reference citation, and they should never include the bibliographic details of a reference. They should also not contain any figures or tables.

Footnotes to the text are numbered consecutively; those to tables should be indicated by superscript lower-case letters (or asterisks for significance values and other statistical data). Footnotes to the title or the authors of the article are not given reference symbols.

Always use footnotes instead of endnotes.

## Acknowledgments

Acknowledgments of people, grants, funds, etc. should be placed in a separate section on the title page. The names of funding organizations should be written in full.

## Scientific style

Please always use internationally accepted signs and symbols for units (SI units).

Nomenclature: Insofar as possible, authors should use systematic names similar to those used by IUPAC.

Genus and species names should be in italics.

Generic names of drugs and pesticides are preferred; if trade names are used, the generic name should be given at first mention.

Please use the standard mathematical notation for formulae, symbols, etc.: Italic for single letters that denote mathematical constants, variables, and unknown quantities; Roman/upright for numerals, operators, and punctuation, and commonly defined functions or abbreviations, e.g., cos, det, e or exp, lim, log, max, min, sin, tan, d (for derivative); Bold for vectors, tensors, and matrices.

## References

### Citation

Reference citations in the text should be identified by numbers in square brackets. Some examples:

1. Negotiation research spans many disciplines [3].



2. This result was later contradicted by Becker and Seligman [5].

3. This effect has been widely studied [1-3, 7].

### Reference list

The list of references should only include works that are cited in the text and that have been published or accepted for publication. Personal communications and unpublished works should only be mentioned in the text.

The entries in the list should be numbered consecutively.

If available, please always include DOIs as full DOI links in your reference list (e.g. “<https://doi.org/abc>”).

### Journal article

Gamelin FX, Baquet G, Berthoin S, Thevenet D, Nourry C, Nottin S, Bosquet L (2009) Effect of high intensity intermittent training on heart rate variability in prepubescent children. *Eur J Appl Physiol* 105:731-738. <https://doi.org/10.1007/s00421-008-0955-8>

Ideally, the names of all authors should be provided, but the usage of “et al” in long author lists will also be accepted:

Smith J, Jones M Jr, Houghton L et al (1999) Future of health insurance. *N Engl J Med* 965:325–329

### Article by DOI

Slifka MK, Whitton JL (2000) Clinical implications of dysregulated cytokine production. *J Mol Med*. <https://doi.org/10.1007/s001090000086>

### Book

South J, Blass B (2001) *The future of modern genomics*. Blackwell, London

### Book chapter

Brown B, Aaron M (2001) The politics of nature. In: Smith J (ed) *The rise of modern genomics*, 3rd edn. Wiley, New York, pp 230-257

#### Online document

Cartwright J (2007) Big stars have weather too. IOP Publishing PhysicsWeb. <http://physicsweb.org/articles/news/11/6/16/1>. Accessed 26 June 2007

#### Dissertation

Trent JW (1975) Experimental acute renal failure. Dissertation, University of California

Always use the standard abbreviation of a journal's name according to the ISSN List of Title Word Abbreviations, see ISSN.org LTWA

#### Statements & Declarations

The following statements must be included in your submitted manuscript under the heading 'Statements and Declarations'. This should be placed after the References section. Please note that submissions that do not include required statements will be returned as incomplete.

#### **Funding**

Please describe any sources of funding that have supported the work. The statement should include details of any grants received (please give the name of the funding agency and grant number).

Example statements:

*"This work was supported by [...] (Grant numbers [...] and [...]). Author A.B. has received research support from Company A."*

*"The authors declare that no funds, grants, or other support were received during the preparation of this manuscript."*

#### **Competing Interests**

Authors are required to disclose financial or non-financial interests that are directly or indirectly related to the work submitted for publication. Interests within the last 3 years of beginning the work (conducting the research and preparing the work for submission) should be reported. Interests outside the 3-year time frame must be disclosed if they could reasonably be perceived as influencing the submitted work.

Example statements:

*“Financial interests: Author A and B declare they have no financial interests. Author C has received speaker and consultant honoraria from Company M. Dr. C has received speaker honorarium and research funding from Company M and Company N. Author D has received travel support from Company O. Non-financial interests: Author D has served on advisory boards for Company M and Company N.”*

*“The authors have no relevant financial or non-financial interests to disclose.”*

Please refer to the “Competing Interests” section below for more information on how to complete these sections.

### **Author Contributions**

Authors are encouraged to include a statement that specifies the contribution of every author to the research and preparation of the manuscript.

Example statement:

*“All authors contributed to the study conception and design. Material preparation, data collection and analysis were performed by [full name], [full name] and [full name]. The first draft of the manuscript was written by [full name] and all authors commented on previous versions of the manuscript. All authors read and approved the final manuscript.”*

Please refer to the “Authorship Principles ” section below for more information on how to complete this section.

### **Data Availability**

All original research must include a Data Availability Statement. Data Availability Statements should provide information on where data supporting the results reported in the article can be found. Statements should include, where applicable, hyperlinks to publicly archived datasets analysed or generated during the study. When it is not possible to share research data publicly, for instance when individual privacy could be compromised, data availability should still be stated in the manuscript along with any conditions for access.

Example statements:

*“The datasets generated during and/or analysed during the current study are available in the [NAME] repository, [PERSISTENT LINK TO DATASETS]”*

*“The datasets generated during and/or analysed during the current study are not publicly available due to [REASON(S) WHY DATA ARE NOT PUBLIC] but are available from the corresponding author on reasonable request[.]”*

Please refer to the “Research Data Policy and Data Availability” section below for more information on how to complete this section.

In addition to the above, manuscripts that report the results of studies involving humans and/or animals should include the following declarations:

### **Ethics approval**

Authors of research involving human or animal subjects should include a statement that confirms that the study was approved (or granted exemption) by the appropriate institutional and/or national research ethics committee (including the name of the ethics committee and reference number, if available). For research involving animals, their data or biological material, authors should supply detailed information on the ethical treatment of their animals in their submission. If a study was granted exemption or did not require ethics approval, this should also be detailed in the manuscript.

*“This study was performed in line with the principles of the Declaration of Helsinki. Approval was granted by the Ethics Committee of University B (Date.../No....).”*

*“This is an observational study. The XYZ Research Ethics Committee has confirmed that no ethical approval is required.”*

For detailed information on relevant ethical standards and criteria, please refer to the sections on “Research involving human participants, their data or biological material”, “Research involving animals, their data or biological material”.

### **Consent to participate**

For all research involving human subjects, freely-given, informed consent to participate in the study must be obtained from participants (or their parent or legal guardian in the case of children under 16) and a statement to this effect should appear in the manuscript.

Example statement:

*“Informed consent was obtained from all individual participants included in the study.”*

*“Written informed consent was obtained from the parents.”*

Please refer to the section on “Informed Consent” for additional help with completing this information.

### **Consent to publish**

Individuals may consent to participate in a study, but object to having their data published in a journal article. If your manuscript contains any individual person’s data in any form (including any individual details, images or videos), consent for publication must be obtained from that person, or in the case of children, their parent or legal guardian. This is in particular applicable to case studies. A statement confirming that consent to publish has been received from all participants should appear in the manuscript.

Example statement:

*“The authors affirm that human research participants provided informed consent for publication of the images in Figure(s) 1a, 1b and 1c.”*

Please refer to the section on “Informed Consent” for additional help with completing this information.

### **Tables**

All tables are to be numbered using Arabic numerals.

Tables should always be cited in text in consecutive numerical order.

For each table, please supply a table caption (title) explaining the components of the table.

Identify any previously published material by giving the original source in the form of a reference at the end of the table caption.

Footnotes to tables should be indicated by superscript lower-case letters (or asterisks for significance values and other statistical data) and included beneath the table body.

### **Figure Numbering**

All figures are to be numbered using Arabic numerals.

Figures should always be cited in text in consecutive numerical order.

Figure parts should be denoted by lowercase letters (a, b, c, etc.).

If an appendix appears in your article and it contains one or more figures, continue the consecutive numbering of the main text. Do not number the appendix figures, "A1, A2, A3, etc." Figures in online appendices [Supplementary Information (SI)] should, however, be numbered separately.

### **Figure Captions**

Each figure should have a concise caption describing accurately what the figure depicts. Include the captions in the text file of the manuscript, not in the figure file.

Figure captions begin with the term Fig. in bold type, followed by the figure number, also in bold type.

No punctuation is to be included after the number, nor is any punctuation to be placed at the end of the caption.

Identify all elements found in the figure in the figure caption; and use boxes, circles, etc., as coordinate points in graphs.

Identify previously published material by giving the original source in the form of a reference citation at the end of the figure caption.

### **Figure Placement and Size**

Figures should be submitted within the body of the text. Only if the file size of the manuscript causes problems in uploading it, the large figures should be submitted separately from the text.

When preparing your figures, size figures to fit in the column width.

For large-sized journals the figures should be 84 mm (for double-column text areas), or 174 mm (for single-column text areas) wide and not higher than 234 mm.

For small-sized journals, the figures should be 119 mm wide and not higher than 195 mm.

### **Permissions**

If you include figures that have already been published elsewhere, you must obtain permission from the copyright owner(s) for both the print and online format. Please be aware that some publishers do

not grant electronic rights for free and that Springer will not be able to refund any costs that may have occurred to receive these permissions. In such cases, material from other sources should be used.

### **Accessibility**

In order to give people of all abilities and disabilities access to the content of your figures, please make sure that

All figures have descriptive captions (blind users could then use a text-to-speech software or a text-to-Braille hardware)

Patterns are used instead of or in addition to colors for conveying information (colorblind users would then be able to distinguish the visual elements)

Any figure lettering has a contrast ratio of at least 4.5:1

## ANEXO E - Instruções aos autores – Revista Nutrition

Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/journal/nutrition/publish/guide-for-authors>

### Original Investigation (3000-5000 words including tables, figures and references)

Original investigations are considered full-length applied (human) or basic (bench work) research reports. They cover topics relevant to clinical and basic studies relevant to man in the following areas nutritionally related biochemistry, genetics, immunology, metabolism, molecular and cell biology, neurobiology, physiology, and pharmacology. Studies in adult and pediatric populations are welcome. The work presented in the manuscript must be original; studies confirming previous observations will be considered. Other considerations of a paper's publishability are its importance to the science, the soundness of the experimental design, the validity of methods, the appropriateness of the conclusions and the quality of presentation.

### Submission

### checklist

Ensure that the following information and files have been included. One author has been designated as the corresponding author with contact details: E-mail address Full postal address

#### Manuscript:

Word doc or similar required. PDF is not suitable for review and production.

Include keywords.

Has been spell-checked and grammar checked.

Has been edited by professional, preferably native-English-speaking editor.

Please do not add line numbering as this will be added automatically.

#### Tables:

Include titles, description, footnotes.

Create tables in the document rather than inserting image files, so that changes can be made.

#### Figures:

High quality and good resolution.

Provide separate image files as well as in-manuscript.

Include relevant captions.

Indicate clearly if color should be used for any figures in print.

Ensure all figure and table citations in the text match the files provided.

If applicable include as separate files:

Graphical abstracts

Highlights (3-5, document file)

Supplemental files

References:

All references mentioned in the Reference List are cited in the text, and vice versa.

Make sure reference style is consistent throughout.

Further considerations:

Permission has been obtained for use of copyrighted material from other sources (including the Internet).

Relevant declarations of interest have been made.

Journal policies detailed in this guide have been reviewed.

Referee suggestions and contact details provided, based on journal requirements.

We now differentiate between the requirements for new and revised submissions. You may choose to submit your manuscript as a single Word or PDF file to be used in the refereeing process. Only when your paper is at the revision stage, will you be requested to put your paper in to a 'correct format' for acceptance and provide the items required for the publication of your article.

**To find out more, please visit the Preparation section below.**

### **Ethics in publishing**

## **CONDITIONS OF PUBLICATION — ETHICAL AND LEGAL CONSIDERATIONS**

All material submitted to *Nutrition*, for any section of the journal, is considered for publication on the understanding that authors (including all coauthors) agree to *Nutrition's* publication policies as stated in this section of the Guidelines to Authors.

In the event of non-compliance with these conditions of publication, including issues that surface after a contribution is published, *Nutrition's* rights include: sending a notice of failure to comply to authors' employers and funding agencies; and/or informing readers via a published correction/retraction; the latter is linked to the original contribution via electronic indexing and becomes part of the formal published record.

Research/publication misconduct is a serious breach of ethics. Such misconduct includes:

- i) Redundant or duplicate publication by same author(s),
- ii) Publication in another source by the same author(s) without acknowledgement or permission from the publisher, or
- iii) Plagiarism or self-plagiarism (publication of material without acknowledging original author source).
- iv) Fabrication of data, not substantiable via review of research records.

Should such publications occur, editorial action would be taken. In certain cases, secondary publication is justifiable and even beneficial; however, such circumstances should be prospectively discussed with and agreed upon by the Editor-In-Chief.

*Nutrition* will not accept a submission of work previously reported in large part in a published article (duplicate) or that is contained in another paper submitted or accepted for publication in *Nutrition* or elsewhere.

#### **Informed consent and patient details**

Studies on patients or volunteers require ethics committee approval and informed consent, which should be documented in the paper. Appropriate consents, permissions and releases must be obtained where an author wishes to include case details or other personal information or images of patients and any other individuals in an Elsevier publication. Written consents must be retained by the author but copies should not be provided to the journal. Only if specifically requested by the journal in exceptional circumstances (for example if a legal issue arises) the author must provide copies of the consents or evidence that such consents have been obtained. For more information, please review the [Elsevier Policy on the Use of Images or Personal Information of Patients or other Individuals](#). Unless you have written permission from the patient (or, where applicable, the next of kin), the personal details of any patient included in any part of the article and in any supplementary materials (including all illustrations and videos) must be removed before submission.

#### **Declaration of competing interest**

Corresponding authors, on behalf of all the authors of a submission, must disclose any financial and personal relationships with other people or organizations that could inappropriately influence (bias) their work. Examples of potential conflicts of interest include employment, consultancies, stock ownership, honoraria, paid expert testimony, patent applications/registrations, and grants or other funding. All authors, including those *without* competing interests to declare, should provide the relevant information to the corresponding author (which, where relevant, may specify they have nothing to declare). Corresponding authors should then use [this tool](#) to create a shared statement and upload to the submission system at the Attach Files step.

### **Declaration of generative AI in scientific writing**

The below guidance only refers to the writing process, and not to the use of AI tools to analyse and draw insights from data as part of the research process.

Where authors use generative artificial intelligence (AI) and AI-assisted technologies in the writing process, authors should only use these technologies to improve readability and language. Applying the technology should be done with human oversight and control, and authors should carefully review and edit the result, as AI can generate authoritative-sounding output that can be incorrect, incomplete or biased. AI and AI-assisted technologies should not be listed as an author or co-author, or be cited as an author. Authorship implies responsibilities and tasks that can only be attributed to and performed by humans.

Authors should disclose in their manuscript the use of AI and AI-assisted technologies in the writing process by following the instructions below. A statement will appear in the published work. Please note that authors are ultimately responsible and accountable for the contents of the work.

### ***Disclosure* instructions**

Authors must disclose the use of generative AI and AI-assisted technologies in the writing process by adding a statement at the end of their manuscript in the core manuscript file, before the References list. The statement should be placed in a new section entitled ‘Declaration of Generative AI and AI-assisted technologies in the writing process’.

### **Use of inclusive language**

Inclusive language acknowledges diversity, conveys respect to all people, is sensitive to differences, and promotes equal opportunities. Content should make no assumptions about the beliefs or commitments of any reader; contain nothing which might imply that one individual is superior to another on the grounds of age, gender, race, ethnicity, culture, sexual orientation, disability or health condition; and use inclusive language throughout. Authors should ensure that writing is free from bias, stereotypes, slang, reference to dominant culture and/or cultural assumptions. We advise to seek gender neutrality by using plural nouns

("clinicians, patients/clients") as default/wherever possible to avoid using "he, she," or "he/she." We recommend avoiding the use of descriptors that refer to personal attributes such as age, gender, race, ethnicity, culture, sexual orientation, disability or health condition unless they are relevant and valid. When coding terminology is used, we recommend to avoid offensive or exclusionary terms such as "master", "slave", "blacklist" and "whitelist". We suggest using alternatives that are more appropriate and (self-) explanatory such as "primary", "secondary", "blocklist" and "allowlist". These guidelines are meant as a point of reference to help identify appropriate language but are by no means exhaustive or definitive.

## **Reporting sex- and gender-based analyses**

### ***Reporting***

### ***guidance***

For research involving or pertaining to humans, animals or eukaryotic cells, investigators should integrate sex and gender-based analyses (SGBA) into their research design according to funder/sponsor requirements and best practices within a field. Authors should address the sex and/or gender dimensions of their research in their article. In cases where they cannot, they should discuss this as a limitation to their research's generalizability. Importantly, authors should explicitly state what definitions of sex and/or gender they are applying to enhance the precision, rigor and reproducibility of their research and to avoid ambiguity or conflation of terms and the constructs to which they refer (see Definitions section below). Authors can refer to the [Sex and Gender Equity in Research \(SAGER\) guidelines](#) and the [SAGER guidelines checklist](#). These offer systematic approaches to the use and editorial review of sex and gender information in study design, data analysis, outcome reporting and research interpretation - however, please note there is no single, universally agreed-upon set of guidelines for defining sex and gender.

### ***Definitions***

Sex generally refers to a set of biological attributes that are associated with physical and physiological features (e.g., chromosomal genotype, hormonal levels, internal and external anatomy). A binary sex categorization (male/female) is usually designated at birth ("sex assigned at birth"), most often based solely on the visible external anatomy of a newborn. Gender generally refers to socially constructed roles, behaviors, and identities of women, men and gender-diverse people that occur in a historical and cultural context and may vary across societies and over time. Gender influences how people view themselves and each other, how they behave and interact and how power is distributed in society. Sex and gender are often incorrectly portrayed as binary (female/male or woman/man) and unchanging whereas these constructs actually exist along a spectrum and include additional sex categorizations and gender identities such as people who are intersex/have differences of sex development (DSD) or identify as non-binary. Moreover, the terms "sex" and "gender" can be ambiguous—thus it is important for authors to define the manner in which they are used.

### ***Author***

### ***contributions***

For transparency, we require corresponding authors to provide co-author contributions to the manuscript

using the relevant CRediT roles. The roles are: Conceptualization; Data curation; Formal analysis; Funding acquisition; Investigation; Methodology; Project administration; Resources; Software; Supervision; Validation; Visualization; Roles/Writing - original draft; and Writing - review & editing. Note that not all roles may apply to every manuscript, and authors may have contributed through multiple roles.

### Authorship

**Corresponding Author:** One author is designated the corresponding author (not necessarily the senior author) who will be approached to clarify any issues, such as those pertaining to materials and methods, or technical comments. If *Nutrition* receives feedback from its readers concerning the published paper, the corresponding author will be contacted. It is this author's responsibility to inform all coauthors of such matters to ensure they are dealt with promptly.

The corresponding author must affirm in the cover letter at the time of submission that:

1. None of the material in the manuscript is included in another manuscript, has been published previously, or is currently under consideration for publication elsewhere. This includes symposia proceedings, transactions, books, articles published by invitation, and preliminary publications of any kind except an abstract of less than 250 words. If there is any question concerning potential overlap, the related material must be included for evaluation.

2. Ethical guidelines were followed by the investigator in performing studies on humans or animals and should be described in the paper. The approval of the institutional review board of either animal or human ethics committee must be cited in the Methods.

3. Each author must have participated sufficiently in the work to take public responsibility for the content of the paper and must approve of the final version of the manuscript. Authorship should be based on substantive contributions to each of the following: conception and design of the study; generation, collection, assembly, analysis and/or interpretation of data; and drafting or revision of the manuscript; approval of the final version of the manuscript. Authors are required to include a statement in the Acknowledgements to specify the actual contribution of each coauthor under the above headings.

4. If requested, the authors will provide the data or will cooperate fully in obtaining and providing the data on which the manuscript is based for examination by the editors or their assignees

### Copyright

Upon acceptance of an article, authors will be asked to complete a 'Journal Publishing Agreement'. An e-mail will be sent to the corresponding author confirming receipt of the manuscript together with a 'Journal

Publishing Agreement' form or a link to the online version of this agreement.

Subscribers may reproduce tables of contents or prepare lists of articles including abstracts for internal circulation within their institutions. Permission of the Publisher is required for resale or distribution outside the institution and for all other derivative works, including compilations and translations. If excerpts from other copyrighted works are included, the author(s) must obtain written permission from the copyright owners and credit the source(s) in the article.

For gold open access articles: Upon acceptance of an article, authors will be asked to complete a 'License Agreement'.

### **Role of the funding source**

You are requested to identify who provided financial support for the conduct of the research and/or preparation of the article and to briefly describe the role of the sponsor(s), if any, in study design; in the collection, analysis and interpretation of data; in the writing of the report; and in the decision to submit the article for publication. If the funding source(s) had no such involvement, it is recommended to state this.

### **NEW**

### **SUBMISSIONS**

Submission to this journal proceeds totally online and you will be guided stepwise through the creation and uploading of your files. The system automatically converts your files to a single PDF file, which is used in the peer-review process.

As part of the Your Paper Your Way service, you may choose to submit your manuscript as a single file to be used in the refereeing process. This can be a PDF file or a Word document, in any format or lay-out that can be used by referees to evaluate your manuscript. It should contain high enough quality figures for refereeing. If you prefer to do so, you may still provide all or some of the source files at the initial submission. Please note that individual figure files larger than 10 MB must be uploaded separately.

### **Formatting author group**

Omission of titles after author names is required, since they can create confusion and misunderstandings, and delay publication time.

### **References**

There are no strict requirements on reference formatting at submission. References can be in any style or format as long as the style is consistent. Where applicable, author(s) name(s), journal title/book title, chapter title/article title, year of publication, volume number/book chapter and the article number or pagination must be present. Use of DOI is highly encouraged. The reference style used by the journal will be applied

to the accepted article by Elsevier at the proof stage. Note that missing data will be highlighted at proof stage for the author to correct.

### ***Formatting***

### ***requirements***

There are no strict formatting requirements but all manuscripts must contain the essential elements needed to convey your manuscript, for example Abstract, Keywords, Introduction, Materials and Methods, Results, Conclusions, Artwork and Tables with Captions. If your article includes any Videos and/or other Supplementary material, this should be included in your initial submission for peer review purposes. Divide the article into clearly defined sections.

### ***Figures and tables embedded in text***

Please ensure the figures and the tables included in the single file are placed next to the relevant text in the manuscript, rather than at the bottom or the top of the file. The corresponding caption should be placed directly below the figure or table.

### **The peer review process**

#### **Double**

#### **anonymized**

#### **review**

This journal operates a double anonymized review process. All contributions will be initially assessed by the editor for suitability for the journal. Papers deemed suitable are then typically sent to a minimum of two independent expert reviewers to assess the scientific quality of the paper. The Editor is responsible for the final decision regarding acceptance or rejection of articles. The Editor's decision is final. Editors are not involved in decisions about papers which they have written themselves or have been written by family members or colleagues or which relate to products or services in which the editor has an interest. Any such submission is subject to all of the journal's usual procedures, with peer review handled independently of the relevant editor and their research groups.

Anonymized review means the identities of the authors are concealed from the reviewers, and vice versa. To facilitate this, please include the following separately: Title page (with author details): This should include the title, authors' names, affiliations, acknowledgements and any Declaration of Interest statement, and a complete address for the corresponding author including an e-mail address. Anonymized manuscript (no author details): The main body of the paper (including the references, figures, tables and any acknowledgements) should not include any identifying information, such as the authors' names or affiliations.

### **An outline of what to expect, for this journal, from receipt of submission to first decision**

The Managing Editor determines, generally within a week, whether the language and presentation are sufficiently clear for the review process, and whether there are any ethical or basic quality issues. If there are any concerns, the manuscript may be returned to the author for a chance to improve the manuscript. If the manuscript is then deemed clear and ethical, it goes to the Editor in Chief or Deputy Editor in Chief. Authors sometimes ask why the English must be improved at this stage, as it takes time and can be costly. The reason is that it helps us to engage the services of expert reviewers within a reasonable time frame, as they receive many requests, and helps all who check the manuscript to be sure of the authors' meaning from the start. Elsevier has an English-editing service, but authors are free to use any editor they like, as long as the result is a manuscript in which the science and methods are explained clearly.

The Editor in Chief determines, also generally within a week, whether the science and methods are sufficiently sound for peer review, and the topic important enough for consideration of publication in this particular journal. If the manuscript passes this stage, it goes on to the Associate Editor.

The Associate Editor manages the review process. Only a few reviewers can be invited at a time, and they are each allowed a maximum of five workdays to respond. If they agree to our request, they are given 14 days to review the manuscript. If they are late, they are sent reminders. If they do not respond to reminders, they are uninvited and a new reviewer is invited in their place. When the Associate Editor determines that a sufficient amount of input has been provided by the reviewers, a decision is made. The decision may require further confirmation from the Editor in Chief. If, after 90 days from the date of submission, outside reviewer input is still deemed insufficient, the Associate Editor is required to make, in consultation with other editors or board members if needed, their own decision.

### **REVISED SUBMISSIONS**

#### ***Use of word processing software***

Regardless of the file format of the original submission, at revision you must provide us with an editable file of the entire article. Keep the layout of the text as simple as possible. Most formatting codes will be removed and replaced on processing the article. The electronic text should be prepared in a way very similar to that of conventional manuscript. See also the section on Electronic artwork. To avoid unnecessary errors you are strongly advised to use the 'spell-check' and 'grammar-check' functions of your word processor.

#### **Article structure**

### **Subdivision - unnumbered sections**

Divide your article into clearly defined sections. Each subsection is given a brief heading. Each heading should appear on its own separate line. Subsections should be used as much as possible when cross-referencing text: refer to the subsection by heading as opposed to simply 'the text'.

#### **Introduction**

State the objectives of the work and provide an adequate background, avoiding a detailed literature survey or a summary of the results.

#### **Material and methods**

Provide sufficient details to allow the work to be reproduced by an independent researcher. Methods that are already published should be summarized, and indicated by a reference. If quoting directly from a previously published method, use quotation marks and also cite the source. Any modifications to existing methods should also be described.

#### **Theory/calculation**

A Theory section should extend, not repeat, the background to the article already dealt with in the Introduction and lay the foundation for further work. In contrast, a Calculation section represents a practical development from a theoretical basis.

#### **Results**

Results should be clear and concise.

#### **Discussion**

This should explore the significance of the results of the work, not repeat them. A combined Results and Discussion section is often appropriate. Avoid extensive citations and discussion of published literature.

#### **Conclusions**

The main conclusions of the study may be presented in a short Conclusions section, which may stand alone or form a subsection of a Discussion or Results and Discussion section.

#### **Appendices**

If there is more than one appendix, they should be identified as A, B, etc. Formulae and equations in appendices should be given separate numbering: Eq. (A.1), Eq. (A.2), etc.; in a subsequent appendix, Eq. (B.1) and so on. Similarly for tables and figures: Table A.1; Fig. A.1, etc.

This should include 1) title of paper (**use no abbreviations, limit: 120 characters with spaces**), 2) running head of fewer than 55 characters with spaces, 3) full names of all authors with highest academic

degree(s); 4) affiliations of all authors; 4) role of each author in the work (see Authorship); 5) a word count for the entire manuscript (including figures and tables), and the number of figures and tables, 4) the complete mailing address (including telephone, fax, and e-mail address of the corresponding author for e-mailing of proofs and reprint requests).

### **Highlights**

Highlights are mandatory for this journal as they help increase the discoverability of your article via search engines. They consist of a short collection of bullet points that capture the novel results of your research as well as new methods that were used during the study (if any). Please have a look at the **example Highlights**.

Highlights should be submitted in a separate editable file in the online submission system. Please use 'Highlights' in the file name and include 3 to 5 bullet points (maximum 85 characters, including spaces, per bullet point).

Abstracts should be no more than **250 words**. The structured abstract for an original investigation should be organized as follows:

*Objective:* The abstract should begin with a clear statement of the precise objective or question addressed in the paper. If a hypothesis was tested, it should be stated.

*Research Methods & Procedures:* The basic design of the study and its duration should be described. The methods used should be stated, the statistical data/methods provided and referenced.

*Results:* The main results of the study should be given in narrative form. Measurements or other information that may require explanation should be defined. Levels of statistical significance should be indicated, including other factors crucial to the outcome of the study.

*Conclusion(s):* State only conclusions that are directly supported by the evidence and the implications of the findings.

### **Keywords**

5—7 key words or phrases should be provided which should be selected from the body of the text and not duplicate title words.

### **Abbreviations**

Define abbreviations that are not standard in this field in a footnote to be placed on the first page of the

article. Such abbreviations that are unavoidable in the abstract must be defined at their first mention there, as well as in the footnote. Ensure consistency of abbreviations throughout the article.

### **Acknowledgments**

Collate acknowledgements in a separate section at the end of the article before the references and do not, therefore, include them on the title page, as a footnote to the title or otherwise. List here those individuals who provided help during the research (e.g., providing language help, writing assistance or proof reading the article, etc.).

### **Formatting of funding sources**

List funding sources in this standard way to facilitate compliance to funder's requirements:

Funding: This work was supported by the National Institutes of Health [grant numbers xxxx, yyyy]; the Bill & Melinda Gates Foundation, Seattle, WA [grant number zzzz]; and the United States Institutes of Peace [grant number aaaa].

It is not necessary to include detailed descriptions on the program or type of grants and awards. When funding is from a block grant or other resources available to a university, college, or other research institution, submit the name of the institute or organization that provided the funding.

If no funding has been provided for the research, it is recommended to include the following sentence:

This research did not receive any specific grant from funding agencies in the public, commercial, or not-for-profit sectors.

### **Units**

Follow internationally accepted rules and conventions: use the international system of units (SI). If other units are mentioned, please give their equivalent in SI.

### **Footnotes**

Footnotes should be used sparingly. Number them consecutively throughout the article. Many word processors build footnotes into the text, and this feature may be used. Should this not be the case, indicate the position of footnotes in the text and present the footnotes themselves separately at the end of the article.

### **Figure captions**

Ensure that each illustration has a caption. A caption should comprise a brief title (**not** on the figure itself)

and a description of the illustration. Keep text in the illustrations themselves to a minimum but explain all symbols and abbreviations used.

### **Tables**

Please submit tables as editable text and not as images. Tables can be placed either next to the relevant text in the article, or on separate page(s) at the end. Number tables consecutively in accordance with their appearance in the text and place any table notes below the table body. Be sparing in the use of tables and ensure that the data presented in them do not duplicate results described elsewhere in the article. Please avoid using vertical rules and shading in table cells.

### **References**

#### ***Citation***

#### ***in***

#### ***text***

Please ensure that every reference cited in the text is also present in the reference list (and vice versa). Any references cited in the abstract must be given in full. Unpublished results and personal communications are not recommended in the reference list, but may be mentioned in the text. If these references are included in the reference list they should follow the standard reference style of the journal and should include a substitution of the publication date with either 'Unpublished results' or 'Personal communication'. Citation of a reference as 'in press' implies that the item has been accepted for publication.

#### ***Reference***

#### ***links***

Increased discoverability of research and high quality peer review are ensured by online links to the sources cited. In order to allow us to create links to abstracting and indexing services, such as Scopus, Crossref and PubMed, please ensure that data provided in the references are correct. Please note that incorrect surnames, journal/book titles, publication year and pagination may prevent link creation. When copying references, please be careful as they may already contain errors. Use of the DOI is highly encouraged.

A DOI is guaranteed never to change, so you can use it as a permanent link to any electronic article. An example of a citation using DOI for an article not yet in an issue is: VanDecar J.C., Russo R.M., James D.E., Ambeh W.B., Franke M. (2003). Aseismic continuation of the Lesser Antilles slab beneath northeastern Venezuela. *Journal of Geophysical Research*, <https://doi.org/10.1029/2001JB000884>. Please note the format of such citations should be in the same style as all other references in the paper.

#### ***Web***

#### ***references***

As a minimum, the full URL should be given and the date when the reference was last accessed. Any further information, if known (DOI, author names, dates, reference to a source publication, etc.), should also be given. Web references can be listed separately (e.g., after the reference list) under a different heading if desired, or can be included in the reference list.

**Data****references**

This journal encourages you to cite underlying or relevant datasets in your manuscript by citing them in your text and including a data reference in your Reference List. Data references should include the following elements: author name(s), dataset title, data repository, version (where available), year, and global persistent identifier. Add [dataset] immediately before the reference so we can properly identify it as a data reference. The [dataset] identifier will not appear in your published article.

**Preprint****references**

Where a preprint has subsequently become available as a peer-reviewed publication, the formal publication should be used as the reference. If there are preprints that are central to your work or that cover crucial developments in the topic, but are not yet formally published, these may be referenced. Preprints should be clearly marked as such, for example by including the word preprint, or the name of the preprint server, as part of the reference. The preprint DOI should also be provided.

**Reference****formatting**

There are no strict requirements on reference formatting at submission. References can be in any style or format as long as the style is consistent. Where applicable, author(s) name(s), journal title/book title, chapter title/article title, year of publication, volume number/book chapter and the article number or pagination must be present. Use of DOI is highly encouraged. The reference style used by the journal will be applied to the accepted article by Elsevier at the proof stage. Note that missing data will be highlighted at proof stage for the author to correct. If you do wish to format the references yourself they should be arranged according to the following examples:

**Reference style**

*Text:* Indicate references by number(s) in square brackets in line with the text. The actual authors can be referred to, but the reference number(s) must always be given.

*List:* Number the references (numbers in square brackets) in the list in the order in which they appear in the text.

*Examples:*

Reference to a journal publication:

[1] Van der Geer J, Hanraads JAJ, Lupton RA. The art of writing a scientific article. *J Sci Commun* 2010;163:51–9. <https://doi.org/10.1016/j.Sc.2010.00372>.

Reference to a journal publication with an article number:

[2] Van der Geer J, Hanraads JAJ, Lupton RA. The art of writing a scientific article. *Heliyon*. 2018;19:e00205. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2018.e00205>

Reference to a book:

[3] Strunk Jr W, White EB. *The elements of style*. 4th ed. New York: Longman; 2000.

Reference to a chapter in an edited book:

[4] Mettam GR, Adams LB. How to prepare an electronic version of your article. In: Jones BS, Smith RZ, editors. Introduction to the electronic age, New York: E-Publishing Inc; 2009, p. 281–304.

Reference to a website:

[5] Cancer Research UK. Cancer statistics reports for the UK, <http://www.cancerresearchuk.org/aboutcancer/statistics/cancerstatsreport/>; 2003 [accessed 13 March 2003].

Reference to a dataset:

[dataset] [6] Oguro M, Imahiro S, Saito S, Nakashizuka T. Mortality data for Japanese oak wilt disease and surrounding forest compositions, Mendeley Data, v1; 2015. <https://doi.org/10.17632/xwj98nb39r.1>.

Note shortened form for last page number. e.g., 51–9, and that for more than 6 authors the first 6 should be listed followed by 'et al.'