



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA  
INSTITUTO DE GENÉTICA E BIOQUÍMICA  
PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E BIOQUÍMICA

## **ESTABILIDADE DE MEMBRANA DE ERITRÓCITOS EM PORTADORES DE DEPRESSÃO**

Estudante: **Rita de Cássia Mascarenhas Netto**

Orientador: **Prof. Dr. Nilson Penha-Silva**

UBERLÂNDIA, MG  
2009

# **Livros Grátis**

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA  
INSTITUTO DE GENÉTICA E BIOQUÍMICA  
PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E BIOQUÍMICA

## **ESTABILIDADE DE MEMBRANA DE ERITRÓCITOS EM PORTADORES DE DEPRESSÃO**

**Estudante: Rita de Cássia Mascarenhas Netto**

**Orientador: Prof. Dr. Nilson Penha Silva**

**Co-orientador: Prof. Dr. Carlos Henrique Alves de Rezende**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Uberlândia como parte dos requisitos para a obtenção do Título de Mestre em Genética e Bioquímica (Área Bioquímica).

UBERLÂNDIA, MG  
2009

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

---

- F475e Mascarenhas Netto, Rita de Cássia, 1985-  
Estabilidade de membrana de eritrócitos em portadores de depressão /  
Rita de Cássia Mascarenhas Netto. - 2009.  
103 f.: il.
- Orientador: Nilson Penha-Silva.  
Co-orientador: Carlos Henrique Alves de Rezende.  
Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Uberlândia, Programa  
de Pós-Graduação em Genética e Bioquímica.  
Inclui bibliografia.
1. Membranas (Biologia) - Teses. 2. Eritrócitos - Teses. I. Penha-Silva,  
Nilson. II. Alves de Rezende, Carlos Henrique. III. Universidade Federal de  
Uberlândia. Programa de Pós-Graduação em Genética e Bioquímica. IV.  
Título.

---

CDU: 576.314



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA  
INSTITUTO DE GENÉTICA E BIOQUÍMICA  
PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E BIOQUÍMICA

## ESTABILIDADE DE MEMBRANA DE ERITRÓCITOS EM PORTADORES DE DEPRESSÃO

Estudante: **Rita de Cássia Mascarenhas Netto**

### COMISSÃO EXAMINADORA

Presidente: Prof. Dr. **Nilson Penha-Silva** (Orientador) [INGEB - UFU]  
Examinador: Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> **Veridiana de Melo Rodrigues Ávila** [INGEB - UFU]  
Examinador: Prof. Dr. **Eduardo Ferrioli** [FM-USP-RP]

Data da defesa: **30/07/2009**

As sugestões da Comissão Examinadora e as Normas da PGGB para o formato da dissertação foram contempladas.

Prof. Dr. **Nilson Penha-Silva**  
Orientador

“Que os nossos esforços desafiem as impossibilidades. Lembrai-vos de que as grandes proezas da história foram conquistas do que parecia impossível.”

**(Charlie Chaplin)**

Dedico este trabalho a Deus, que me conforta em todos os momentos da minha vida. Aos meus pais, Marcos Antônio e Eloísa, que me proporcionam caminhos para a concretização dos meus sonhos, enfim, acreditam em mim.

## AGRADECIMENTOS

A Deus, pela força e esperança nos momentos de dificuldade, luz sempre presente em minha vida.

Aos meus pais, Marcos Antônio e Eloísa, e irmãos, Luanna e João Henrique, pela companhia, compreensão, paciência e acima de tudo, pela credibilidade em mim. Obrigada, pais, pelos esforços que me conduziram até aqui, e por se dedicarem à nossa formação profissional e pessoal. Essa conquista é mais deles que minha!

À minha família, por acreditarem no meu esforço e pela dedicação para finalizar mais essa etapa na vida.

Ao Professor Dr. Nilson Penha-Silva, pela orientação e auxílio neste trabalho. Obrigada pela confiança depositada em mim e pela paciência nos momentos difíceis de expectativa.

Ao Professor Dr. Carlos Henrique Alves de Rezende, pela orientação, auxílio na pesquisa com execução do seu excelente trabalho como médico.

Ao Programa de Pós-Graduação em Genética e Bioquímica da UFU pela oportunidade de ingressar, e ao corpo docente, por se dedicar ao ensino e pesquisa de qualidade.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo apoio financeiro, e à Universidade Federal de Uberlândia, que possibilitou a realização deste trabalho.

Ao Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia (HC-UFU), pela parceria nas atividades e disponibilidade de recursos e funcionários para estarem auxiliando sempre que necessário. E de fato, ao Laboratório de Análises Clínicas, que disponibilizou os resultados dos exames, e os funcionários que me receberam com muita dedicação, e ajudaram, além do que era proposto.

Aos idosos voluntários atendidos no ambulatório didático de Geriatria e Gerontologia, de Cardiologia e de Nefrologia do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia (HC-UFU) que colaboraram com execução desse trabalho. Agradeço a eles pela disposição, carisma e pelas boas conversas durante as coletas, onde aprendi bastante sobre a vida.



Aos estudantes do curso de Medicina, Grédista Oliveira, Fernanda Melo, Daniel Amaral e Priscila Brandão, acompanhantes do Dr. Carlos Henrique, que estiveram presentes no ambulatório durante as consultas e se prontificaram a executar as entrevistas e orientações aos pacientes.

Aos colegas de laboratório, pelos conhecimentos transferidos, companheirismo e lições de vida que sempre tiramos proveito nas conversas. Alguns mais presentes, outros um pouco distantes, mas com certeza cada um tem sua parcela de interferência na minha vida, seja acadêmica ou pessoal. Obrigada a todos!

Aos amigos do mestrado, os antigos ou recentemente conquistados, pela amizade, companheirismo e momentos de alegria compartilhados.

À minha amiga, irmã, Mariana Vaini de Freitas, por todos os momentos que passamos juntas e pelo inestimável companheirismo e colaboração. E às amigas, Alice Maria, Flávia Messias, Juliana Huss e Tatiana Theodoro, que estão comigo desde a graduação, sempre juntas, cúmplices, companheiras!!

Ao meu namorado Luiz Antônio Theodoro, obrigada pelo apoio e compreensão. Embora esteja presente há pouco tempo na minha vida, me alegra saber que é alguém que também torce por mim.

Aos amigos da Especialização em Análises Clínicas, Alexandra, Emília, Rodrigo, Eduardo, Marcus Vinícius e Larissa, que nesses últimos dois anos me proporcionaram boas risadas, conversas e bons momentos no laboratório.

Aos amigos que sempre estão próximos e aqueles que mesmo distante, me apoiaram, incentivaram e que tiveram credibilidade em mim. Obrigada pela amizade e pelo conforto nos momentos difíceis!

Todos aqueles que direta ou indiretamente me incentivaram e me deram suporte em mais essa batalha, e que acredito que estarão comigo até o final de todas minhas conquistas.

**APOIO**

**COORDENAÇÃO DE APERFEIÇOAMENTO DE PESSOAL DE NÍVEL SUPERIOR**



**FUNDAÇÃO DE AMPARO À PESQUISA DO ESTADO DE MINAS GERAIS**



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA (UFU)**



## ABREVIATURAS

A1	Absorvância depois da transição de desnaturação dos eritrócitos
A2	Absorvância antes da transição de desnaturação dos eritrócitos
AA	Ácido araquidônico
COMT	Enzima Catecol-O-metiltransferase
Cys	Cisteína
EPA	Ácido eicosapentaenóico
DHA	Ácido docosahexaenóico
FOE	Fragilidade Osmótica Eritrocitária
GDS	Geriatric Depression Scale (Escala de Depressão Geriátrica)
H <sub>50</sub>	Concentração de NaCl capaz de promover 50% de hemólise
Hcy	Homocisteína
HHcy	Hiper-Homocisteinemia
HVA	Ácido Homovalínico
LCAT	Enzima Lecitina colesterol acil-transferase
MAO	Enzima Mono-amonino-oxidase
Met	Metionina
MNA	Mini-Nutritional Assessment
n	Tamanho da amostra (número de sujeitos)
PC	Fosfatidilcolina
PE	Fosfatidiletalona
PUFA	Ácidos graxos polinsaturados
r	Coefficiente de correlação de Pearson
RDW	Red Cell Distribution Width
ROM	Metabólitos reativos do oxigênio
SAH	S-Adenosil-homocisteína
SAM	S-Adenosil-metionina
THF	Tetraidrofolato
UFA	Ácidos graxos insaturados
VCM	Volume Corpuscular Médio
ω3-PUFA	Ácidos graxos polinsaturados da família ω3
ω6-PUFA	Ácidos graxos polinsaturados da família ω6

**LISTA DE FIGURAS**

	<b>Página</b>
<b>Capítulo 1</b>	
<b>Figura 1.1</b> Metabolismo da homocisteína-metionina	<b>29</b>
<b>Figura 1.2</b> Hiperhomocisteinemia e os mecanismos de neurotoxicidade	<b>30</b>
<b>Figura 1.3</b> Catabolismo da dopamina	<b>31</b>
<b>Figura 1.4</b> Catabolismo da noradrenalina	<b>32</b>
<b>Capítulo 2</b>	
<b>Figura 2.1</b> Dependência dos escores de MNA com a Idade dos pacientes, considerando população total sem estratificação por sexo.	<b>67</b>
<b>Figura 2.2</b> Dependência das dosagens séricas de Homocisteína com a Idade dos pacientes, sem estratificação por sexo.	<b>68</b>
<b>Figura 2.3</b> Relação entre os escores de GDS e MNA para a população total sem estratificação por sexo.	<b>69</b>
<b>Figura 2.4</b> Dependência dos escores de GDS com as dosagens plasmáticas de Homocisteína para a população total sem estratificação por sexo.	<b>70</b>
<b>Figura 2.5</b> Curva típica obtida na avaliação da estabilidade de eritrócitos de um paciente contra estresse hipotônico.	<b>71</b>
<b>Figura 2.6</b> Dependência dos valores de $H_{50}$ com as dosagens plasmáticas de Homocisteína para a população total sem estratificação por sexo.	<b>72</b>
<b>Figura 2.7</b> Dependência dos valores de VCM com as concentrações de NaCl responsáveis por 50% de hemólise ( $H_{50}$ ), considerando população total, sem estratificação por sexo.	<b>73</b>
<b>Figura 2.8</b> Dependência dos valores de RDW com as concentrações de NaCl responsáveis por 50% de hemólise ( $H_{50}$ ), considerando população total, sem estratificação por sexo.	<b>74</b>
<b>Figura 2.9</b> Fatores que poderiam contribuir para alteração da estabilidade de membrana.	<b>91</b>

**LISTA DE TABELAS**

	<b>Página</b>
<b>Tabela 1.</b> Distribuição dos escores de MNA (estado nutricional) na população total e com estratificação por sexo.	<b>63</b>
<b>Tabela 2.</b> Análise das correlações entre a Idade dos pacientes e as diversas variáveis.	<b>64</b>
<b>Tabela 3.</b> Análise da dependência da vitamina B12 e do folato com as demais variáveis.	<b>65</b>
<b>Tabela 4.</b> Análise da relação entre $H_{50}$ e parâmetros hematológicos e nutricionais considerando amostra total de pacientes.	<b>66</b>

## SUMÁRIO

	Página
<b>Abreviaturas</b> .....	<b>ix</b>
<b>Lista de Figuras</b> .....	<b>x</b>
<b>Lista de Tabelas</b> .....	<b>xi</b>
<b>Apresentação</b> .....	<b>1</b>
<b>Capítulo 1 [Fundamentação teórica] Envelhecimento, nutrição, depressão e estabilidade de membranas biológicas</b> .....	<b>4</b>
<b>Envelhecimento</b> .....	<b>5</b>
Envelhecimento populacional .....	<b>6</b>
<b>Depressão</b> .....	<b>7</b>
A depressão no idoso .....	<b>9</b>
Etiologia e patofisiologia .....	<b>10</b>
Determinantes bioquímicos da depressão .....	<b>11</b>
Folato .....	<b>11</b>
• Metabolismo do folato .....	<b>11</b>
• Deficiência de folato .....	<b>12</b>
Cobalamina (Vitamina B12) .....	<b>13</b>
• Metabolismo da vitamina B12 .....	<b>13</b>
• Deficiência de vitamina B12 .....	<b>14</b>
Homocisteína (Hcy) .....	<b>15</b>
• Metabolismo da Homocisteína .....	<b>15</b>
• Hiperhomocisteinemia .....	<b>16</b>
S-adenosilmetionina (SAM) .....	<b>18</b>
Teorias da conexão entre vit B e depressão .....	<b>18</b>
<b>Estrutura e composição das membranas biológicas</b> .....	<b>20</b>
Eritrócitos como modelo de estudo .....	<b>22</b>
Estabilidade dos eritrócitos .....	<b>23</b>
Influência da idade nos eritrócitos .....	<b>24</b>
Eritrócitos e doenças psiquiátricas .....	<b>25</b>
Considerações finais .....	<b>27</b>
Referências .....	<b>33</b>
<b>Capítulo 2 [Trabalho experimental] Estabilidade de membrana de eritrócito em portadores de depressão</b> .....	<b>48</b>
Resumo .....	<b>49</b>
Abstract .....	<b>51</b>
Introdução .....	<b>52</b>
Material e Métodos .....	<b>56</b>
Resultados .....	<b>61</b>
Discussão .....	<b>75</b>
Conclusão .....	<b>90</b>
Referências .....	<b>92</b>

# APRESENTAÇÃO

O envelhecimento, como um processo degenerativo, limita a longevidade dos organismos vivos, afetando as estruturas de complexos organizacionais biológicos tais como tecidos, células, organelas, cromossomos, proteínas e membranas biológicas. Esses complexos são responsáveis pela manutenção da condição vital. O envelhecimento ou senescência pode ser entendido como a perda progressiva da capacidade de homeostase, com deterioração de mecanismos fisiológicos essenciais para combater as agressões ambientais, o que torna o indivíduo mais vulnerável ao desenvolvimento de doenças crônico-degenerativas. Em idosos, a depressão é uma das doenças crônicas mais freqüentes; ela eleva a probabilidade de desenvolvimento de incapacidade funcional, constituindo um importante problema de saúde pública.

No contexto da condição geriátrica do paciente, a depressão pode ser uma co-morbidade vinculada a doenças degenerativas associadas ao envelhecimento e/ou às deficiências nutricionais, frequentemente presentes.

Estudos que abordam as alterações associadas com a idade sugerem que fatores nutricionais são importantes para função cognitiva na velhice e que deficiências específicas na dieta podem ser prejudiciais para a retenção da capacidade mental. O consumo de componentes alimentares particulares (antioxidantes, óleos marinhos e vitaminas) é provavelmente relevante para manutenção das funções normais do sistema nervoso. A baixa ingestão de vitaminas do complexo B (folato, piridoxina e cobalamina) e/ou a existência de baixos níveis estacionários dessa vitaminas no sangue estão associadas com desordens psiquiátricas.

Mudanças relacionadas com a idade na absorção, metabolismo e/ou eliminação de folato e cobalamina (vitamina B12) podem resultar em acúmulo de homocisteína (Hcy) e deficiência de metionina (Met) e de S-adenosil-metionina (SAM). Aquelas vitaminas estão envolvidas na remetilação da Hcy a Met, que é subsequentemente adenosilada a S-adenosilmetionina (SAM), responsável pela doação de grupos metil em reações da síntese de neurotransmissores monoaminérgicos. A SAM também é requerida na metilação de fosfolipídeos de membrana, essenciais para acoplamento de receptores, e na síntese de proteínas e ácidos nucléicos. Deficiências daquelas vitaminas do complexo B podem alterar



reações celulares de metilação e função cerebral normal por diminuição das concentrações de SAM e acúmulo de Hcy.

Uma vez que esses processos bioquímicos estão associados ao metabolismo de fosfolípidos, os mecanismos degenerativos determinados por aquelas deficiências devem estar associados a alterações na estrutura e composição das membranas biológicas não somente das células neurais, mas também de outras células pós-mitóticas do organismo.

É claro que a composição bioquímica de uma membrana depende de fatores genéticos, como a capacidade de expressão de suas proteínas e enzimas envolvidas na biossíntese e degradação de seus aminoácidos e lipídeos. Mas ela é também dependente de fatores nutricionais envolvidos na formação de fosfolípidos de membranas. Alterações na composição de uma membrana, decorrentes de deficiências nutricionais, devem alterar propriedades básicas da membrana, como sua estabilidade.

O eritrócito constitui um modelo muito adequado para estudo da estabilidade de membranas, uma vez que a ruptura de sua membrana promove liberação de hemoglobina, cuja absorção de luz na região do visível permite a monitoração da desnaturação da membrana.

Alterações no comportamento de membrana dos eritrócitos devem refletir alterações no comportamento de membrana de outras células pós-mitóticas como as células neurais. É dentro deste contexto que este trabalho investiga a existência de correlações entre nutrição, depressão, variáveis hematológicas e bioquímicas com a estabilidade de membrana de eritrócitos humanos.

O **capítulo 1** constrói a fundamentação teórica da questão, buscando contextualizar as possíveis relações existentes entre envelhecimento, nutrição, degeneração neural e composição e comportamento de membranas biológicas.

O **capítulo 2** apresenta o nosso estudo experimental, com os resultados obtidos nas análises de correlações entre idade, nutrição, depressão, variáveis hematológicas e bioquímicas, e estabilidade de membranas de eritrócitos em pacientes ambulatoriais do Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia.

## **CAPÍTULO 1**

### **FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA**

#### **ENVELHECIMENTO, NUTRIÇÃO, DEPRESSÃO E ESTABILIDADE DE MEMBRANAS BIOLÓGICAS**

## O ENVELHECIMENTO

O envelhecimento é um processo natural da vida e não é definido de uma forma simples em termos biológicos. É uma manifestação de eventos degenerativos que ocorrem ao longo da vida, seguindo ritmos diferentes em cada indivíduo [ARKING, 2006]. Ele é caracterizado por declínios morfológicos, fisiológicos, moleculares e energéticos, que levarão o indivíduo à morte.

A longevidade média, que é a duração média da vida, é um conceito de natureza estatística e compreende as mortes provocadas por causas externas (acidentes, homicídios e suicídios) e aquelas provocadas por doenças (infecções e doenças degenerativas). Essa longevidade é determinada por fatores genéticos, que envolvem vulnerabilidade ao desenvolvimento de infecções e de doenças degenerativas, mas também por fatores epigenéticos (determinados pelo padrão de alimentação e pelo estilo de vida), sociais (alimentação, homicídios e suicídios) e aleatórios (acidentes) [ARKING, 2006]. A longevidade máxima, que é a duração máxima da vida, compreenderia as mortes causadas apenas pelo envelhecimento, expressando mais precisamente o potencial de duração da espécie.

O envelhecimento pode ser determinado por fatores genéticos, considerando a vulnerabilidade aos processos degenerativos, mas é essencialmente um processo determinado por fatores epigenéticos associados à degeneração crônica do organismo. Segundo o paradigma geriátrico, essa degeneração compreenderia as doenças crônicas degenerativas, porém o paradigma biogerontológico considera a ocorrência do envelhecimento mesmo na ausência dessas doenças [ARKING, 2006].

De fato, enquanto a longevidade representa o potencial de duração da espécie, o envelhecimento representaria a degeneração epigenética produzida pelo desgaste estocástico dos complexos biológicos que determinam a vida.

As teorias que procuram explicar como o envelhecimento ocorre podem ser classificadas em duas categorias: 1) teorias baseadas em eventos programados e 2) teorias estocásticas [HAYFLICK, 1994; HAYFLICK, 1998].

As teorias fundamentadas em eventos programados envolvem as teorias neuro-endócrina, imunológica e genética [HAYFLICK, 1997; GUARENTE, 1999;

GUARENTE, KENYON, 2000; MOTA et al., 2006]. Essas teorias são fundamentadas na existência de uma programação para o envelhecimento e a morte; a existência dessa programação deve estar mais intrinsecamente associada à determinação da longevidade e da vulnerabilidade do organismo à degeneração estocástica. As teorias estocásticas compreendem a teoria do desgaste, das mutações genéticas, dos erros e reparos, das ligações cruzadas e a teoria oxidativa [MACKAY et al., 1990; HOLLOSZY, SCHECHTMAN, 1991; ORR, SOHAL, 1994; SOHAL et al., 1995; SOHAL, WEINDRUCH, 1996; LITHGOW, 1996; MOTA et al., 2006]. O envelhecimento seria decorrente do acúmulo progressivo, aleatório e inespecífico de degenerações macroscópicas e microscópicas das estruturas orgânicas [CRISTOFALO et al., 1994]. Os componentes estruturais das células, como DNA, proteínas e lipídeos, estão em homeostase; o envelhecimento seria resultante do desequilíbrio entre a capacidade de atenuação e adaptação do organismo em relação à quantidade de danos degenerativos [MOTA et al., 2006]. Com o ganho da idade, declinaria a habilidade do organismo em reagir aos danos de origem exógena e endógena, o que seria a essência do envelhecimento.

### **Envelhecimento populacional**

Nas últimas décadas tem ocorrido um aumento importante da população idosa especialmente nos países em desenvolvimento. No Brasil, o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), por meio da Pesquisa Nacional por Amostra de Domicílios (PNAD) reportou que, em 2005, 9,9% da população total eram idosos [IBGE, 2005]. O DATASUS, por meio dos Indicadores e Dados Básicos do Brasil [IDB, 2006], também reportou esse aumento da população idosa, ao constatar que o índice de envelhecimento (número de pessoas idosas para cada 100 indivíduos jovens por ano) no Brasil, saltou de 21,0 em 1991 para 33,9 em 2005 [DATASUS, IDB, 2006].

Essa transição demográfica tem ocorrido devido à redução da natalidade e da mortalidade infantil, à melhora das condições de vida da população em geral, ao avanço técnico-científico possibilitando diagnóstico mais precoce e, por conseguinte, tratamento mais adequado das doenças. Associado ao aumento da população idosa tem-se verificado também um aumento das doenças mais

freqüentes nessa faixa etária, estimulando o desenvolvimento de pesquisas nesta área [FORLENZA; CARAMELLI, 2000].

Segundo a Organização Mundial da Saúde, a idade de 65 anos é o ponto de corte para a definição do indivíduo como idoso. Esse limite é válido nos países desenvolvidos onde a longevidade é atualmente maior do que nos países socialmente menos desenvolvidos. No Brasil, a idade limítrofe para que uma pessoa seja classificada como idosa é de 60 anos, segundo Ministério da Saúde.

Várias condições geriátricas, como as doenças crônicas degenerativas e o próprio processo de envelhecimento, contribuem para o estado de saúde na velhice [CECIL, 2004].

Diante deste cenário observam-se dois aspectos relevantes, a depressão, enquanto comorbidade associada às doenças mais prevalentes nos idosos, e a carência nutricional, freqüentemente presente antes e durante o desenvolvimento das condições geriátricas.

Com relação à depressão, sabe-se que é uma condição clínica comum na população geriátrica, com taxas que indicam prevalências entre 1% a 16% entre os idosos que vivem na comunidade e os sintomas são pouco reconhecidos pelo paciente e pelos profissionais de saúde [ALMEIDA; ALMEIDA, 1999].

## **A DEPRESSÃO**

A depressão é um problema de saúde pública em algumas regiões. Um grande número de fatores tem sido associado à depressão. A depressão é uma condição heterogênea no que diz respeito à etiologia, sendo sua causa freqüentemente multifatorial; ela deve ser interpretada como uma desordem bio-psico-social. Ela gera um grande impacto na qualidade de vida do idoso, podendo precipitar ou mesmo agravar outras doenças [FORLENZA; CARAMELLI, 2000]. É provável que fatores genéticos e fisiológicos e suas interações sejam os determinantes etiológicos da depressão. No entanto, há evidências de que hábitos de vida, assim como exercício físico e dieta, também afetem o humor.

A depressão é muito comum entre pessoas idosas, afetando ao menos um em seis pacientes tratados na prática médica em geral e um alto percentual

destes em hospitais e asilos. Pessoas idosas têm maior taxa de suicídio do que qualquer outra faixa etária. Uma grande quantidade de distúrbios físicos está relacionada ou é intensificada pelo estado depressivo [REYNOLDS, KUPFER, 1999].

A prevalência de depressão tem variado entre estudos, possivelmente devido aos diferentes métodos usados. No estudo de Lindeman e colaboradores [2000], a prevalência de episódio de depressão maior em 12 meses foi de 10,9% para mulheres e 7,2% para homens após ajuste com a idade. Estimativas de prevalência para depressão clinicamente significativa na vida tardia varia da ordem de 10% para pessoas idosas vivendo independentemente na comunidade para cerca de 25% nos portadores de doenças crônicas, especialmente pessoas com doença isquêmica cardíaca, infarto, câncer, doença pulmonar crônica, artrite, demência de Alzheimer e mal de Parkinson [BEEKMAN et al., 1995; BORSON, 1995; BORSON et al., 1986; OXMAR et al., 1990; CALLAHAN et al., 1994; BLAZER, 1989; JONES, YANG, 1985]. Esses resultados ressaltam a inseparabilidade da saúde mental e física em pessoas de idade avançada. Eles também apontam para a necessidade de testes clínicos usando critérios seguros e bem tolerados pelos pacientes idosos deprimidos que são acometidos por doenças crônicas e depleção da capacidade psicológica.

Embora os indivíduos do sexo feminino tenham uma melhor capacidade de recuperação [MEYERS et al., 2002], as desordens depressivas presentes na população em geral parecem estar muito vinculadas ao sexo feminino [JENKINS et al., 1997]. A depressão também está mais presente em indivíduos de menor status socioeconômico, em desempregados [BLAZER et al., 1994] e tabagistas [KENDLER et al., 1993; LINDEMAN et al., 2000]. Lindeman e colaboradores [2000] também encontraram vinculação dos episódios de depressão com o abuso de álcool e o ambiente urbano, embora resultados inconsistentes tenham sido relatados para a relação da depressão com o ambiente urbano [JENKINS et al., 1997]. O fato de ser solteiro e a obesidade também têm sido apresentados como fatores de risco para a depressão, mas somente em homens [LINDEMAN et al., 2000].

## A depressão no idoso

A depressão é sub-diagnosticada e sub-tratada [FLECK et al., 2003], particularmente na população idosa, mas o diagnóstico de transtorno depressivo em idosos demanda cautela, uma vez que as queixas somáticas são freqüentes no próprio processo de envelhecimento normal, sendo que nos idosos deprimidos a exacerbação dessas queixas está associada a alto índice de ansiedade [TRENTINI et al. , 2005; SAMUELS et al. , 2004]. No entanto, esse quadro pode se apresentar de forma atípica, pois os sintomas depressivos não são tão aparentes como na depressão em adultos não-idosos [SAMUELS et al., 2004]. É importante ressaltar que há semelhanças entre as sintomatologias da depressão e da demência em idosos, aumentando ainda mais a dificuldade em precisar os diagnósticos. Agravando esse quadro, observa-se freqüente coexistência de depressão e demência no indivíduo idoso [CHIU et al., 2005; SAMUELS et al., 2004; ZUBENKO et al. , 2003].

A depressão entre idosos pode ser rastreada por meio de escalas. A Escala de Depressão Geriátrica com 15 itens (GDS-15) é uma versão curta da original e foi elaborada por Sheikh e Yesavage [1986], apresentando boa acurácia diagnóstica, com sensibilidade, especificidade e confiabilidade adequadas, além do menor tempo de aplicação [PARADELA et al., 2005].

Van den Berg e colaboradores [2001] estudaram 132 pessoas depressivas com 57 anos ou mais na população da Bélgica. Eles sugeriram que depressão na velhice pode ser dividida em três subgrupos de acordo com diferentes vias etiológicas: 1) depressão com início cedo e vulnerabilidade psicobiológica constante; 2) depressão com início tardio como reação a uma vida estressante; e 3) depressão com início tardio associada a fatores de risco vascular. No estudo de Pankala e colaboradores [1995] a prevalência de depressão entre idosos com 65 anos ou mais foi de 16,5%. Essa depressão é frequentemente de permanência longa e recorrente [KIVELA et al, 1988; PANKALA et al, 1995]. No estudo prospectivo de Schoevers e colaboradores [2003], a prevalência de depressão foi de 12,0% em uma amostra de pessoas com idades entre 65-84 anos. Pulska e colaboradores [1999] relataram que depressão não estava associada com sexo, mas sim com idade avançada, viuvez e baixo nível educacional em homens. Esses autores também encontraram uma relação entre depressão e desordens

distímicas, as quais foram reputadas à alta ocorrência de doenças somáticas, embora a distímia não tenha sido associada à mortalidade em pessoas idosas [PULSKA et al., 1999]. Steffens e colaboradores [2002] encontraram que mortalidade estava associada com uma idade mais avançada para início da depressão. Elevadas prevalências de depressão também tem sido associadas a homens e mulheres institucionalizados [ALVES DE REZENDE et al., 2008].

### **Etiologia e patofisiologia da depressão**

A etiologia da depressão tem sido considerada multifatorial. A herança genética tem sido considerada capaz de determinar uma contribuição de 40 a 50% para o desenvolvimento da depressão.

Um grande número de estudos tem mostrado relação entre depressão e os genes que codificam o transporte de serotonina [EWALD 1998; CASPI et al, 2003; VAN DYCK et al, 2004], a mono-amino-oxidase (MAO) [DU et al 2002; NAGATSU, 2004] e o receptor de 5-HT1A [LEMONDE et al, 2003; STROBEL et al, 2003]. O papel da serotonina tem sido considerado central na patogênese da depressão. Estudos de imagem cerebral têm detectado alterações nas densidades dos transportadores de serotonina (SERT) em pacientes depressivos [ICHIMIYA et al., 2002; LAASONEN-BALK et al., 2004]. A depleção de triptofano, precursor da biossíntese de serotonina, ou a inibição de síntese de serotonina leva a sintomas depressivos em indivíduos saudáveis e em indivíduos depressivos [NEUMEISTER, 2003]. A maioria dos medicamentos antidepressivos age através do aumento do transporte de serotonina [LEONARD, 2003].

As catecolaminas também desempenham algum papel na patogênese da depressão. Pacientes depressivos que estavam em remissão após tratamento antidepressivo noradrenérgico sentiram sintomas depressivos quando suas transmissões noradrenérgicas foram inibidas [BRUNELLO et al, 2002]. Há também poucos estudos com associação entre transmissão dopaminérgica e depressão, embora os resultados sejam ainda inconsistentes [LAASONEN-BALK et al., 1999; BRUNSWICK et al, 2003; LAASONEN-BALK et al, 2004]. Tem sido postulado que poderia haver subgrupos de pacientes depressivos com diferentes tipos de instabilidade em seus sistemas nervosos. Há evidência que alguns



pacientes devem ter preferencialmente disfunções noradrenérgicas e outros serotoninérgicas [BRUNELLO et al., 2002].

A relação da depressão com produtos nitrogenados que sofrem degradação pela MAO é a base da chamada hipótese ou teoria monoamina da depressão. Apesar da quantidade substancial de evidências que dão suporte a esta idéia, outras hipóteses tem sido levantadas. Tem sido reivindicado que mecanismos neurotróficos sejam relevantes na patogênese de depressão [CÁSTREN, 2004]. É também possível que o hormônio liberador de corticotropina (CRH) tenha um papel na mediação da ansiedade e do humor depressivo, uma vez que tem sido mostrado que níveis de CRH no fluido cérebro espinhal estão elevados na depressão.

### **Depressão e vitaminas do complexo B**

Uma das hipóteses bastante consideradas para a etiologia da depressão envolve a deficiência de algumas vitaminas do complexo B, embora essas deficiências sejam também consideradas como conseqüência de distúrbios alimentares determinados pelo quadro depressivo. De fato, há um bom conjunto de racionalidades para vincular as deficiências de folato e cobalamina como fatores determinantes de depressão e demência, particularmente na população idosa.

### **O FOLATO**

O folato é amplamente distribuído nas plantas e em produtos de origem animal. Os folatos nos alimentos naturais estão conjugados a cadeias de ácido poliglutâmico. Na luz do intestino delgado, as formas de poliglutamato do folato são enzimaticamente convertidas em formas monoglutamato e diglutamato, as quais são facilmente absorvidas na porção proximal do jejuno. A principal causa de deficiência de folato é a diminuição da ingestão. A absorção de folato está prejudicada em várias doenças que afetam a mucosa jejunal, incluindo espru tropical, doença celíaca e uso de certas drogas como anticonvulsivantes e sulfassalazina [ALLEN, 2004].

No fígado, o folato é convertido em sua forma biologicamente ativa, a coenzima tetraidrofolato (THF), a qual pode intermediar reações de transferência de unidades de um carbono (transmetilação) no metabolismo. Há mais de 100 reações de transmetilação intermediadas por THF no metabolismo [WAGNER, 1995]. Essa função metilante do THF envolve a formação de espécies como N<sub>5</sub>-metil-THF, N<sub>5</sub>-formil-THF e N<sub>5</sub>,N<sub>10</sub>-metileno-THF. O fígado e outros tecidos mantêm níveis de folato suficientes para atender à demanda do organismo por cerca de apenas 40 a 80 dias. A quantidade de folato presente nos eritrócitos não reflete a quantidade de folato do fígado e tecidos, mas o folato sérico reflete sua ingestão na dieta [WU et al., 1975].

A enzima metilenotetraidrofolato redutase (MTHFR) participa na conversão de metileno-THF em 5-metil-THF, que é necessário na síntese de Met a partir de Hcy, processo que também requer a participação da coenzima da cobalamina.

As quantidades recomendadas para ingestão de folato têm variado entre diferentes países, mas tem aumentado com o crescimento do número de estudos sobre a conexão entre folato e muitas doenças. A dose diária recomendada na dieta (RDA) é de 300 µg na Finlândia e 400 µg nos EUA. A quantidade necessária de folato ao organismo depende da quantidade de energia ingerida. A recomendação ajustada à energia ingerida é de 36 µg/MJ. Em vários locais do mundo a ingestão diária de folato é inadequada em ambos os sexos [ALFTHAN et al., 2003], sendo de aproximadamente 90% da RDA em homens e 80% da RDA em mulheres [MANNISTO et al., 2003].

### **Manifestações clínicas da deficiência de folato**

A deficiência de folato é considerada uma das deficiências nutricionais mais comuns. O idoso, a mulher que usa contraceptivos hormonais ou que esteja grávida, o fumante e o dependente de álcool estão em risco de deficiência de folato [SELHUB et al., 1993; CRAVO et al., 1996]. A deficiência de folato está associada com muitas desordens neurológicas que devem resultar em retardamento mental e físico, e também com a anemia megaloblástica [BOTTIGLIERI et al., 1995].

## A COBALAMINA (VITAMINA B12)

A cobalamina pertence ao grupo de vitaminas do complexo B. Ela foi originalmente descoberta em 1926, quando a anemia perniciosa era tratada pela alimentação dos pacientes com fígado. Sua estrutura química, que foi finalmente descoberta 20 anos depois, inclui um átomo de cobalto [ZUBAY et al., 1995].

A cobalamina não está presente em vegetais. A maior parte da cobalamina dos produtos animais está fortemente ligada a proteínas e é liberada delas no estômago pela ação combinada do ácido clorídrico e da pepsina. No estômago, também ocorre a síntese do fator intrínseco, que liga a cobalamina livre com alta afinidade e contribui para a sua absorção. Muitas doenças adquiridas e genéticas afetam a absorção e o transporte da cobalamina, resultando na sua deficiência. Indivíduos idosos frequentemente apresentam acloridria e redução da secreção de pepsina, gerando uma incapacidade de liberar cobalamina da sua forma ligada à proteína nos alimentos de origem animal. Outros fatores podem contribuir para a má absorção da cobalamina, como a insuficiência exócrina pancreática grave, a presença anormal de altas concentrações de bactérias no intestino delgado e interação medicamentosa [ALLEN, 2004].

As coenzimas do folato (THF) e da cobalamina (desoxiadenosilcobalamina) são requeridas para a síntese de nucleotídeos no organismo humano, de tal forma que essas vitaminas são essenciais na síntese de ácidos nucléicos e nucleoproteínas. A cobalamina também serve como coenzima para reduzir ribonucleotídeos a desoxirribonucleotídeos, que é fundamental na replicação de DNA e, conseqüentemente, na divisão celular, particularmente das células sanguíneas vermelhas do sangue. É por isso que anemia megaloblástica também pode ser conseqüente de deficiência de cobalamina, presente na condição chamada anemia perniciosa, causada por deficiência do fator intrínseco [GUYTON 1986; ZUBAY et al., 1995].

Problemas no processamento da informação genética poderiam também explicar as complicações neuropsiquiátricas das deficiências de folato e cobalamina. Entretanto, o turnover das células vermelhas do sangue é muitíssimo elevado em comparação com as células neurais, e isto deve implicar que tais vias sejam relativamente menos importantes no sistema nervoso central (SNC).

Assim, não seria de se esperar a ocorrência de associações entre manifestações hematológicas e neurológicas da deficiência dessas vitaminas [BOTTIGLIERI et al., 1995].

A desoxiadenosil-cobalamina é necessária em dois tipos de reações metabólicas. O primeiro deles é a recuperação de Hcy para produção de metionina (Met), onde também é necessária a ação da coenzima do ácido fólico o tetra-hidro-folato (THF); essa é a razão pela qual uma deficiência de folato e/ou de cobalamina leva à elevação dos níveis sanguíneos de Hcy, condição chamada de hiper-homocisteinemia (HHcy). O segundo deles é conversão de L-metil-malonil-CoA, formado a partir do ácido propiônico, em succinil-CoA, pela ação da enzima metil-malonil-CoA mutase; essa é a razão pela qual a deficiência de cobalamina também leva à formação de ácido metil-malônico, gerando a condição chamada acidose metil-malônica [GUYTON 1986; ZUBAY et al., 1995].

### **Manifestações clínicas da deficiência de cobalamina**

Entre pacientes deficientes de cobalamina com anemia megaloblástica, depressão, demência e neuropatia periférica têm sido descritos como as condições neuropsiquiátricas mais comuns. Com isso, no estudo de Shorvon e colaboradores [1980], um terço dos pacientes com deficiências de cobalamina ou folato suficientemente graves para produzir anemia megaloblástica tinham nenhuma complicação neurológica ou psiquiátrica. Além disso, em muitos estudos uma deficiência inicial de cobalamina tem sido associada com depressão [ABOU-SALEH, COPPEN, 1989].

Outro achado interessante de Shorvon e colaboradores [1980] foi que a deficiência de cobalamina estava especialmente associada com desordens no nervo periférico e da coluna espinhal, sendo que deficiência de folato estava mais associada com desordens psiquiátricas, principalmente depressão. A patogênese dessas complicações neurológicas é incerta. Estudos em modelos animais têm levado a hipóteses de que as alterações neuropsiquiátricas seriam decorrentes dos efeitos neurotóxicos promovidos pelo acúmulo de homocisteína (Hcy) e de S-adenosil-homocisteína (SAH), em consequência do prejuízo à biossíntese de metionina [BOTTIGLIERI et al., 1994].

## HOMOCISTEÍNA (Hcy)

A Hcy é um aminoácido não essencial produzido a partir da desmetilação da metionina, numa seqüência de reações que envolvem a formação do agente metilante S-adenosil-metionina (SAM) (**Figura 1.1**). Têm-se atribuído propriedades antidepressivas ao SAM, por causa de seu envolvimento em reações putativamente associadas ao controle do humor [BOTTIGLIERI, 1996; BOTTIGLIERI et al., 2000].

Quando SAM doa seu grupamento metila pela ação de metil-transferases forma-se SAH, que é capaz de inibir a ação da maioria das metil-transferases conhecidas [KLOOR, OSSWALD, 2004]. Quando a SAH perde o grupo adenosil, pela ação da SAH-hidrolase, forma-se então a Hcy (**Figura 1.1**).

A Hcy pode ser remetilada em metionina pela metionina sintetase (MS), numa reação dependente de desoxiadenosil-cobalamina e 5-metil-THF, como agentes transmetilantes. Conseqüentemente, deficiências nutricionais de folato e/ou de cobalamina devem ser causam de hiper-homocisteinemia (HHcy) [BOTTIGLIERI, 2005]. Realmente, fortes associações têm sido encontradas entre os níveis sanguíneos de folato [STABLER et al., 1990; Homocysteine lowering Trialists Collaboration, 1998] e de cobalamina e as concentrações plasmáticas de tHcy [ZUBAY et al., 1995]. Por outro lado, o uso de dietas com altos níveis de folato durante cinco semanas, com ingestão de pelo menos sete porções de vegetais e frutas cítricas, produziu uma diminuição da concentração de tHcy em torno de 13% [SILASTE et al., 2003]. Foi mostrado que baixos níveis de riboflavina (B2) também devem levar a acumulação de tHcy em pessoas que tem um baixo status de folato [JACQUES et al., 2002].

A Hcy também pode ser convertida em cisteína (Cys), via transulfuração, pela ação sequencial da cistationina-sintase e da cistationina-liase (ou cistationinase), enzimas dependentes da coenzima da piridoxina (vitamina B6) (**Figura 1.1**). Assim, uma deficiência de piridoxina também deve promover HHcy.

A cisteína formada a partir da Hcy inibe a atividade da cistationina-sintase, de tal forma que uma elevação dos níveis de Cys também deve promover HHcy.

Os níveis circulantes de homocisteína (tHcy) também podem ser aumentados por defeitos herdados no metabolismo intracelular de tHcy. Esses

defeitos podem ocorrer nos genes que codificam para a expressão de MS [LECLERE et al., 1996], da N<sub>5</sub>-N<sub>10</sub>-metileno-THF-redutase (MTHFR) [ROZEN, 1996] e seguramente também da cistationina-sintase.

O interesse na tHcy tem sido mais intenso no campo das doenças cardíacas. Em uma meta-análise de 30 estudos prospectivos e retrospectivos, um total de 5073 eventos de doença cardíaca isquêmica (IHD) e 1113 infartos foram avaliados [Homocysteine Studies Collaboration, 2002].

### Hiper-homocisteinemia e neurotoxicidade da homocisteína

Hiper-homocisteinemia (HHcy) não é um termo usado especificamente para designar uma doença, mas sim uma anormalidade bioquímica que está associada a muitas condições patológicas, que incluem desordens neuropsiquiátricas.

A deficiência hereditária de cistationina-sintase, situação em que os níveis plasmáticos de Hcy atingem 500  $\mu\text{mol.L}^{-1}$ , está associada a doença vascular e retardamento mental. Condições neuropsiquiátricas também estão associadas às deficiências hereditárias de metionina-sintetase e N<sub>5</sub>,N<sub>10</sub>-metileno-THF-redutase, onde os níveis de Hcy também estão muito elevados [ROSENBLATT, ERBE, 1977; GOYETTE et al., 1995].

HHcy moderada (15-30  $\mu\text{mol/L}$ ) ou intermediária (30-100  $\mu\text{mol/L}$ ) é mais freqüente na população em geral. Determinantes da HHcy moderada incluem envelhecimento, insuficiência renal, malignidade, hipotireoidismo, diabetes, tabagismo e abuso crônico de álcool. HHcy intermediária englobam as deficiências de folato e cobalamina, falência renal e uso de algumas drogas [REFSUM et al., 2004; SCHNEEDE et al., 2000].

Vários mecanismos para a neurotoxicidade da Hcy têm sido putativamente discutidos na literatura (**Figura 1.2**). Elevação nos níveis de Hcy, associada a prejuízos de qualquer natureza na recuperação de Met a partir de Hcy, vai também promover elevação nos níveis de SAH, simplesmente por manifestação da lei de ação das massas. O excesso do produto Hcy vai desacelerar a conversão do substrato SAH em Hcy porque a razão entre Hcy e SAH terá seguramente atingido a situação de equilíbrio da enzima SAH-hidrolase. Essa situação se propaga para a ação das metil-transferases, que promoveriam a

conversão de SAM em SAH, de tal forma que estas enzimas seriam inibidas simplesmente pela lei de ação das massas. Por outro lado, a limitação da ação da MS limita a oferta de metionina e de SAM, prejudicando as reações de metilação dependentes de SAM. De fato, estudos *in vivo* têm demonstrado que a metiltransferase catecol-O-metiltransferase (COMT), envolvida na metilação das catecolaminas dopamina (**Figura 1.3**) e noradrenalina (**Figura 1.4**), é significativamente inibida com aumento das concentrações de SAH no tecido cerebral. As concentrações de SAH no tecido cerebral com Alzheimer foram significativamente correlacionadas com atividades de COMT e PNMT e vários marcadores de neurodegeneração [KENNEDY et al., 2004]. Como o SAM é também um agente metilante na conversão de fosfatidiletanolamina em fosfatidilcolina, os prejuízos aos processos de metilação podem afetar a composição das membranas celulares [BIANCHI et al., 1999; INNIS et al., 2003] e a função de seus receptores [SHARMA et al., 2001; LE FUR et al., 1981]. A deficiência na metilação de resíduos de arginina da proteína básica da mielina (MBP), que é essencial para compactação da mielina ao redor da bainha do neurônio, pode prejudicar a condução de impulsos neurais [AMUR et al., 1986].

A homocisteína pode promover excitotoxicidade e levar ao aumento de injúria neuronal e a morte celular (**Figura 1.2**). A oxidação da homocisteína a ácido homocisteína sulfínico e ácido homocisteíco pode ocorrer no tecido cerebral [DO et al., 2004; CUENOD et al., 1993]. Esses compostos são aceitos como agonistas endógenos do receptor de N-metil-D-aspartato (NMDA). Receptores NMDA são um grupo de receptores glutamérgicos excitatórios envolvidos na transmissão sináptica e importante no mecanismo de neurotoxicidade (excitotoxicidade) [LIPTON et al., 1997; OLNEY, 1989]. Ativação de receptores NMDA resulta em aumento do  $Ca^{2+}$  intracelular e consequente liberação de proteases que levam a morte celular. A excitotoxicidade tem sido implicada em uma grande variedade de desordens neurodegenerativas e psiquiátricas [LIPTON et al., 1997].

O estresse oxidativo mediado por radicais livres também está implicado como uma causa de doenças neurodegenerativas e psiquiátricas (**Figura 1.2**) [BAINS, SHAW, 1997]. A neurotoxicidade da Hcy também se manifesta pelo aumento da produção de metabólitos reativos do oxigênio (ROS). Em cultura de

células neuronais, a Hcy interage com metais de transição, tal como o cobre, e resulta em toxicidade oxidativa, com danos às células [KRUMAN et al., 2000; WHITE et al., 2001].

### **S-ADENOSILMETIONINA (SAM)**

A SAM doa grupo metila em inúmeras reações importantes no SNC, tais como síntese de proteínas, ácidos nucleicos, fosfolípidos de membrana e monoaminas [REYNOLDS et al., 1984]. A síntese contínua de SAM envolve a recuperação de Met a partir de Hcy, num processo que envolve as vitaminas folato e cobalamina. Propriedades antidepressivas têm sido atribuídas à SAM em muitos estudos [BOTTIGLIERI et al., 1994; MISCHOULON, FAVA, 2002]. Essencialmente, SAM e ácido fólico – ao menos pacientes deficientes de folato – devem ter efeitos clínicos similares na função mental, desde que a condição não tenha os determinantes genéticos da HHcy. Esta é uma das razões pelas quais é possível que a falta dos processos de metilação deva sustentar algumas desordens afetivas [REYNOLDS et al., 1984]. Realmente, a administração de SAM a pacientes depressivos foi associada a aumento no fluido cérebro espinhal (CSF) dos níveis de HVA, catabólito da dopamina (**Figura 1.3**) e de 5-HIAA, catabólito da serotonina [BOTTIGLIERI et al., 1984].

## **Teorias da conexão entre depressão e vitaminas do complexo B**

### **Hipótese monoamina**

Reynolds e colaboradores [1984] apresentaram uma hipótese de que a relação entre deficiência de folato e depressão poderia ser mediada através das monoaminas. O folato também é fonte de pteridina, que gera a coenzima tetra-hidro-biopterina (THBP), necessária tanto na conversão de triptofano em serotonina quanto na conversão de tirosina nas catecolaminas [KAUFMANN, 1981]. Isto significa que deficiência de folato poderia prejudicar a síntese de serotonina e de catecolaminas. Esta hipótese tem sido suportada por muitos estudos [BOTTIGLIERI et al, 1992; BOTTIGLIERI et al., 2000]. Bottiglieri e colaboradores [2000] detectaram baixos níveis de ácido 5-hidroxiindolacético (5-



HIAA) no fluido cerebrospinal (CFS) de pacientes depressivos com deficiência de folato, o que indica que a associação entre depressão e folato seria mediada pela síntese da monoamina serotonina.

Bottiglieri et al. [2000] encontraram que mais da metade dos pacientes internados com depressão grave tinham níveis plasmáticos de tHcy aumentados. Pacientes com tHcy plasmáticos aumentados tinham diminuição significativa de células vermelhas, folato e SAM no sangue e de 5-HIAA no CSF. Bottiglieri e colaboradores sugeriram que isto deve indicar que entre os pacientes com depressão grave existe um subgrupo biológico de depressão com deficiência de folato e prejuízos na metilação de neurotransmissores monoamínicos.

Botez e colaboradores [1982] relataram baixos níveis de 5-HIAA no CFS de pacientes psiquiátricos com deficiência de folato. Deficiência de folato também foi associada a baixos níveis de 5-HIAA no CSF de crianças com comprometimento neurológico [HYLAND et al., 1988].

A hipótese de que vitaminas do complexo B estejam associadas aos níveis cerebrais de monoaminas é também suportado por alguns modelos animais [DEANA et al., 1977; GOSPE et al., 1995].

Há também evidências de que folato influencie o metabolismo da dopamina. No estudo de Bottiglieri et al. [1992], os níveis de folato nas células vermelhas do sangue apresentaram correlação com os níveis de ácido homovanílico (HVA), um metabólito da dopamina, no CFS. Há também correlação entre os níveis de folato do sangue com os de folato no CFS, o que indica que o folato pode vencer a barreira hemo-encefálica [SPECTOR, 1979].

### **Hipótese homocisteína**

A conexão entre vitaminas do complexo B e depressão poderia ser explicada pelos efeitos diretos das vitaminas no metabolismo de monoaminas e de catecolaminas no SNC. Entretanto, baixo status de folato, cobalamina e piridoxina levam a hiperhomocisteinemia, condição que tem sido associada a várias desordens neuropsiquiátrica, inclusive a doença de Alzheimer. Tem sido sugerido que a hiper-homocisteinemia, por si só, poderia causar ou agravar depressão [STABLER et al., 1990; PARNETTI et al., 1997], especialmente entre idosos [BELL et al., 1992].

Tem sido sugerido que ácido homocistéico e ácido cisteína sulfínico, como metabólitos de tHcy, podem ter um efeito excitotóxico nos receptores de N-metil-D-aspartato (NMDA) do SNC. Eles podem também inibir metilação dependente de SAM de aminas biogênicas e de fosfolípídeos [PARNETTI et al., 1997; BOTTIGLIERI et al., 1994]. Uma maneira de metabolizar tHcy é ocorrer à metilação de volta em metionina, o precursor imediato de SAM, o qual serve como doador de metila em reações de metilação da síntese de monoaminas. Um aumento no nível sanguíneo de tHcy pode indicar que os processos de metilação no SNC estão baixos. De acordo com essa hipótese, o aumento dos níveis de tHcy na circulação funcionaria como um indicador do comprometimento do metabolismo de monoaminas, levando à depressão.

Muitos estudos têm buscado encontrar parâmetros que possam ser usados como biomarcadores no diagnóstico de depressão ou que possam permitir sua caracterização molecular e o estabelecimento de vínculos com outras desordens neurodegenerativas.

A composição e estrutura da membrana dos eritrócitos refletem, em alguma extensão, processos ocorrendo em vários outros lugares no organismo. Em particular, algumas anormalidades nos RBC relacionadas á doenças devem refletir anormalidades análogas neuronais que são difíceis de investigar *in vivo* [MELTZER, 1991]. Por essa razão e por causa de sua disponibilidade é que a membranas de eritrócitos são freqüentemente usada como uma janela de acesso ao sistema nervoso central.

## **ESTRUTURA DAS MEMBRANAS BIOLÓGICAS**

As células, bem como suas organelas sub-celulares, são delimitadas por membranas, que geram compartimentos especializados em diferentes funções metabólicas [LODISH et al., 2003].

A membrana é o principal responsável pelo controle da entrada e saída de substâncias da célula e pela manutenção da constância do meio intracelular, que é diferente do meio extracelular. Por ter receptores específicos, tem a capacidade de reconhecer outras células e diversos tipos de moléculas. Algumas células se prendem umas firmemente ás outras, formando camadas que delimitam

compartimentos diferentes através de suas membranas [ALBERTS et al., 2000; HORTON et al., 1996; JUNQUEIRA, CARNEIRO, 2000].

Segundo o modelo do mosaico fluido, a membrana biológica é um fluido constituído por uma bicamada de lipídios, onde se acham inseridas várias moléculas de proteínas [SINGER, NICOLSON, 1972]. As proteínas podem constituir de 20 a 80% da composição das membranas [DE WERR, 2000]. Os carboidratos aparecem também nas estruturas de membranas sob a forma de glicoconjugados com lipídeos e proteínas [DANIELLI, DAVSON, 1935].

Dentre os principais lipídios presentes nas membranas podemos citar os fosfolipídios, os esfingolipídios e os esteróis [CASCIO, 2005]. Os lipídios das membranas são moléculas anfipáticas, ou seja, que possuem uma porção polar juntamente com uma porção apolar em sua estrutura. Os lipídios estão dispostos em dupla camada, sendo que as porções polares dos lipídios ficam expostas para o meio aquoso, seja o meio citoplasmático ou o meio extracelular; já as porções apolares dos lipídios se dirigem umas para as outras no interior da bicamada lipídica [BOON, SMITH, 2002].

As proteínas estão mergulhadas na bicamada (proteínas intrínsecas) ou estão na superfície interna ou externa da bicamada lipídica (proteínas extrínsecas) [LAGUE et al., 2001].

As membranas de organelas subcelulares tais como mitocôndrias e núcleos raramente contêm colesterol, diferentemente das membranas plasmáticas [HALLIWEL, GUTTERIDGE, 1999]. O colesterol desempenha um papel fundamental em muitos processos biológicos tais como: permeabilidade da membrana, organização lateral de lipídios, transdução de sinais e passagem de substâncias através da membrana [WUSTNER, 2007]. Quanto maior a quantidade de esteróis menor é a fluidez da membrana (facilidade de movimento) e maior é a rigidez da membrana [TSUDA, NISHIO, 2003], devido à presença do núcleo rígido do anel esteróide, o qual diminui a liberdade de rotação das ligações carbono-carbono [GARZETTI et al., 2001; MURRAY, GRANNER, 2002].

As duas monocamadas da membrana não possuem a mesma composição lipídica, glicídica e protéica, os que as tornam estruturas assimétricas [DI et al., 2006]. Em geral, os glicídios encontram-se na face externa [ROBERTSON, 1957;

ROBERTSON, 1960] e as cargas elétricas se distribuem diferentemente, sendo a face citoplasmática aquela que em geral tem maior carga líquida negativa.

A fluidez da membrana é essencial para várias funções celulares [GARCÍA et al., 2005]. Ser uma estrutura fluida significa dizer que os seus componentes não ocupariam posições definidas e seriam susceptíveis de sofrer difusão lateral no plano da membrana [FRICK et al., 2007; SINGER, 1974], além de translação e rotação [GOLDSTEIN, 1984]. Isso acontece devido ao fato de não ocorrer ligações fortes (covalentes) entre as moléculas, mas sim ligações fracas (ligações de van der Waals e pontes de hidrogênio) [MURRAY, GRANNER, 2002].

As membranas biológicas são semi-permeáveis, ou seja, apresentam permeabilidade diferenciada, sendo impermeável aos íons, quem demandam canais iônicos de transporte através da membrana [GODBERG et al., 2004], mas permeável à moléculas lipossolúveis, à água [AGRE, 2006] e a gases como o oxigênio e o gás carbônico [WANG et al., 2007].

A integridade da membrana animal pode ser afetada por vários diferentes fatores principalmente por ela não possuir parede celular como as células vegetais e bacterianas. A ausência dessa integridade pode comprometer a fisiologia celular e até levar a célula afetada a morte [MCNEIL, STEINHARDT, 1997].

### **Os eritrócitos como modelo de estudo**

Os eritrócitos ou células vermelhas do sangue são utilizados em muitos estudos relacionados com estrutura, composição e comportamento de membrana. Eles são considerados como bons modelos para o estudo das membranas biológicas, especialmente sua estabilidade, uma vez que a hemólise provocada por qualquer fator de estresse ambiental, libera hemoglobina, que pode ser quantificada pela leitura espectrofotométrica da absorbância em 540 nm ( $A_{540\text{nm}}$ ). A  $A_{540\text{nm}}$  é proporcional à extensão da lise dos eritrócitos (hemólise).

Além da hemoglobina, outros componentes solúveis do eritrócito, como suas enzimas, também podem ser dosadas, o que exige a separação dos elementos figurados íntegros do sangue e dos debrís celulares, o que pode ser

convenientemente executado por centrifugação [MOECKEI et al., 2002; NELSON, COX, 2005].

Alterações na estrutura, composição e comportamento da membrana dos eritrócitos, ocorrem em decorrência de diversos tipos de hemoglobinopatias, envelhecimento, exercícios físicos, dieta, ingestão de etanol e interação com praguicidas [BATISTA et al., 2006; GOUVÊA-E-SILVA, 2006; MARIGLIANO et al., 1999; MAZZANTI et al., 2002; PENHA-SILVA et al., 2007; SRINIVASAN, KEMPAIAH, 2006].

Os eritrócitos fornecem um modelo para avaliar o mecanismo do envelhecimento celular, tanto ao nível de função celular como do envelhecimento do indivíduo. Estudos dos eritrócitos jovens levaram a elaboração de hipóteses sobre o mecanismo envolvido na geração de sinais de senescência e a remoção de eritrócitos envelhecidos pelos macrófagos esplênicos [CAPRARI et al., 1999]. As principais mudanças observadas em eritrócitos senescentes incluem alterações em glicoproteínas [AMINOFF, 1988], diminuição de simetria fosfolipídica [MCEVOY, WILLIAMSON, SCHLEGEL, 1986] e modificações nas proteínas de membrana com o aparecimento de antígenos senescentes de superfície [KAY et al., 1984].

### **A estabilidade de eritrócitos**

Um teste também bastante utilizado, de baixo custo e elevada eficiência na avaliação da estabilidade das membranas [ALDRICH, SAUNDERS, 2001; ELIAS et al., 2004; IVANOV, 2007; MOECKEL et al., 2002] é a fragilidade osmótica eritrocitária (FOE).

A fragilidade osmótica eritrocitária (FOE) pode ser definida como a resistência dos eritrócitos à hemólise contra soluções de 0 a 0,9 g/dL de NaCl em água destilada [JAIN, 1986]. O controle do volume celular pela eliminação ativa de solutos é um dos mecanismos pelo qual a lise da membrana eritrocitária é evitada *in vivo* [MAKINDE, BOBADE, 1994]. As células, quando suspensas em meio hipotônico aumentam até atingir um volume crítico de homólise antes de serem lisadas.

A FOE expressa a habilidade das membranas em manter sua integridade estrutural quando expostas a esse estresse osmótico [ALDRICH, SAUNDERS,

2001]. Nesse tipo de teste é conveniente fazer um monitoramento da lise de eritrócitos mediante a leitura de absorvância da hemoglobina em um espectrofotômetro com comprimento de onda ajustado em 540 nm [MOECKEL et al., 2002].

A osmolaridade em que a célula sofre lise relaciona-se a fatores intrínsecos e extrínsecos. Dentre os fatores intrínsecos destaca-se a forma e tamanho celular, razão área/volume, espécie e propriedades inerentes às membranas [BAUTISTA, 2003]. Segundo Maede [1980], em pacientes humanos a FOE é influenciada pela quantidade de colesterol presente na membrana citoplasmática, tornando-se os eritrócitos mais resistentes à medida que aumenta o nível de colesterol sanguíneo. Eritrócitos nucleados são mais resistentes que eritrócitos não-nucleados. Os eritrócitos maiores são proporcionalmente mais resistentes que eritrócitos menores. Eritrócitos de animais ectotérmicos possuem maior resistência osmótica que os endotérmicos [ALDRICH, SAUNDERS, 2001].

O tempo de vida da célula também é muito importante, já que os eritrócitos senescentes, que correspondem a 30% da população eritrocitária, são mais frágeis do que os eritrócitos jovens [PERK et al., 1964; WEED, REED, 1966; COOPER, 1975; SASAKI, 1977; TELEN, KAUFMAN, 1999].

Os fatores extrínsecos responsáveis pela redução da FOE compreendem variações fisiológicas, como as pós-prandiais, e também variações patológicas, que incluem a presença de hematozoários, uremia, cirrose e processos autoimunes [MAKINDE, BOBADE, 1994].

A FOE é constantemente usada no diagnóstico de hemoglobinopatias, principalmente esferocitoses, na avaliação do efeito de drogas sobre a hematopoiese [PARPART et al., 1947; SUESS et al., 1978; SIRICHOTIYAKUL et al., 2004] e na identificação de alterações de membrana em portadores de câncer cervical e de apnéia obstrutiva do sono [OZTÜRK et al., 2003].

### **Influência da idade**

Há uma grande diferença entre a senescência de eritrócitos, o que está relacionado com o ciclo de vida dessas células, e os efeitos da senescência em eritrócitos, que estão relacionados com o impacto do envelhecimento na homeostase dos complexos organizacionais biológicos. Como os organismos

vivos são sistemas abertos, em constante troca com o ambiente, a sua composição e comportamento corporal devem refletir essa dinâmica dessas trocas. Os genes tentam operar em conjunção com o ambiente no sentido de manter a homeostase e preservar a vida. Mas fato é que por razões que estão intrinsecamente associadas ao processo de envelhecimento corporal, após se alcançar a maturidade sexual, começa um processo de degeneração estrutural e funcional que caracterizam o envelhecimento, aumentando a probabilidade de ocorrência de doenças e cujo desfecho é a morte. Seguramente a degeneração homeostática vai se manifestar também nas propriedades dos eritrócitos. Isso torna os eritrócitos modelos interessantes de estudo de processos degenerativos associados ao envelhecimento, como parece ser a depressão em idosos.

A idade também exerce influência na FOE. Em humanos verifica-se que eritrócitos de prematuros possuem maior resistência do que de recém-nascidos e adultos [BAUTISTA et al., 2003]. Essa influência tem sido analisada em relação aos valores de hematócrito, tempo de vida e ligação de imunoglobulinas [GERSHON, GERSHON, 1988; KOSOWER, 1993], quantidade de hemoglobina [ZAUBER, ZAUBER, 1987; FRASER et al., 1989; WILLIAMS, 1995], reciclagem [WILLIAMS, 1995], composição e comportamento de membrana [RIFKIND et al., 1983; PRISCO et al., 1991; BECKAMN et al., 1998; RABINI et al., 2002].

O envelhecimento leva a alteração na composição de fosfolipídeos e no padrão de assimetria da membrana de eritrócitos [RIFKIND et al., 1983], o que pode afetar as propriedades elétricas da membrana e o equilíbrio entre célula e o meio [MUTUS et al., 2000]. O teor de ácidos graxos insaturados diminui [PRISCO et al., 1991; BECKMAN, AMES, 1998] e o de ácidos graxos saturados aumenta com a idade [PRISCO et al., 1991].

### **Eritrócitos e desordens neuropsiquiátricas**

Muitas alterações em eritrócitos têm sido descritas em diferentes doenças neuropsiquiátricas, sugerindo a existência de algumas alterações bioquímicas comuns entre essas desordens. Essas alterações incluem, dentre outras, algumas mudanças em diferentes atividades enzimáticas, no funcionamento de receptores e na composição em lipídeos e natureza do ácidos graxos dos fosfolipídeos.

Muitas dessas alterações bioquímicas vistas nos eritrócitos de pacientes psiquiátricos podem também ser freqüentemente observadas no plasma, entretanto são as mudanças nos eritrócitos que devem refletir de forma mais válida e confiável as anormalidades bioquímicas de membrana [GLEN et al., 1994; GLEN et al., 1996].

A membrana das células neuronais apresenta aproximadamente na mesma proporção as principais classes de fosfolipídeos que a membrana dos eritrócitos: fosfatidilcolina (PC), fosfatidiletanolamina (PE), fosfatidilserina (PS) e esfingomiélin (SM). As membranas das células vermelhas do sangue contêm mais de 250 diferentes espécies de lipídeos, com diferenças no grupo da cabeça do fosfolipídeo, no tamanho das cadeias e no grau de insaturação de seus ácidos graxos. A composição da membrana é variável e deve depender de muitos fatores externos e internos, incluindo sexo, idade, dieta, estresse, tabagismo, consumo de álcool, dentre outros. Além disso, estudos com eritrócitos isolados do sangue de pacientes com várias desordens mentais, apresentaram diferenças quanto ao espectro dos principais tipos de lipídeos de membrana – os fosfolipídeos e os glicolipídeos – quando comparados com os indivíduos normais. Mudanças nos lipídeos dos eritrócitos associadas com desordens psiquiátricas são de especial interesse porque o padrão lipídico e também a composição de ácidos graxos das membranas dos eritrócitos refletem aquelas das células neurais [CARLSON et al., 1986; BOURRE et al., 1992; BABIN et al., 1993; CONNOR et al., 1993; MAKRIDES et al., 1994].

Anormalidades nos lipídeos de membrana dos eritrócitos em portadores de desordens neuropsiquiátricas foram relatadas há muitos anos, com existência de maiores quantidades de lipídeos totais e colesterol em pacientes esquizofrênicos e depressivos [STEVENS, 1972], embora nenhuma mudança comparável tenha sido observada em hemácias de indivíduos com distúrbio bipolar [SENGUPTA et al., 1981].

A ocorrência de diminuição no teor de fosfolipídeos ricos em  $\omega$ 3-PUFA nas membranas de eritrócitos em portadores de esquizofrenia e depressão [ADAMS et al., 1996] poderia decorrer de alterações no controle da composição dessas membranas, de perdas decorrentes de lipoperoxidação, de alterações na sua



biossíntese ou nas trocas lipídicas entre a membrana dos eritrócitos e outras células ou plasma.

De acordo com hipótese monoamina, a deficiência no afluxo de precursores monoamínicos no cérebro deve estar associada com sintomas clínicos de esquizofrenia e outras desordens psiquiátricas. O “turnover” de monoamina no cérebro é parcialmente regulado pela disponibilidade no plasma de seus precursores, os aminoácidos triptofano (precursor da serotonina) e tirosina (precursor da dopamina e noradrenalina). Acredita-se que os eritrócitos possam contribuir para o transporte desses aminoácidos no organismo. Seus transportes pelas membranas das células vermelhas podem ocorrer por difusão passiva e facilitada. De acordo com Azorin e colaboradores [1994], eritrócitos de pacientes depressivos são caracterizados por diminuição na difusão facilitada de tirosina e aumento do afluxo facilitado de triptofano.

## **CONSIDERAÇÕES FINAIS**

Vários estudos vêm destacando que alterações próprias do envelhecimento estariam envolvidas no desenvolvimento e/ou na manutenção da depressão, além de correlacionarem a depressão com alterações metabólicas significantes. Existem, ainda, muitos trabalhos sugerindo um papel relevante de fatores dietéticos e do estado nutricional na prevenção de afecções psiquiátricas, como a depressão. Com relação à alimentação verifica-se uma problemática mais abrangente, uma vez que a depressão possui como sintoma a hiporexia, ou seja, a baixa ingestão alimentar, promovendo um ciclo vicioso [MORLEY, 1996]. Além disso, sabe-se que o idoso possui uma hiporexia fisiológica, causada pela diminuição de opióides e por um aumento crescente da saciedade por efeito da colecistoquinina, somando-se, assim, às causas de má nutrição nesta faixa etária mais avançada [VETTA et al., 1999].

No entanto, além de relacionar os fatores envelhecimento e depressão, o comportamento das membranas biológicas também se insere em todo esse contexto, uma vez que sua composição e estrutura podem ser modificadas em função das conseqüências dos processos fisiológicos e patológicos associados. O

envelhecimento envolve alterações estruturais e funcionais dos complexos organizacionais biológicos, particularmente das membranas, como as do eritrócito, refletindo as mudanças que estão ocorrendo também em outras membranas do organismo. Entretanto, a composição, estrutura e comportamento de uma membrana dependem da herança genética, alimentação [DOUGHERTY et al., 1987; OLIVIERI et al., 1994], do estilo de vida e da degeneração estocástica [ONARAN et al., 1997].

Verifica-se, portanto, uma relação importante entre o estado nutricional e as alterações metabólicas presentes no idoso que podem configurar-se, por sua vez, como causa e/ou consequência de desordens psiquiátricas, em especial a depressão.

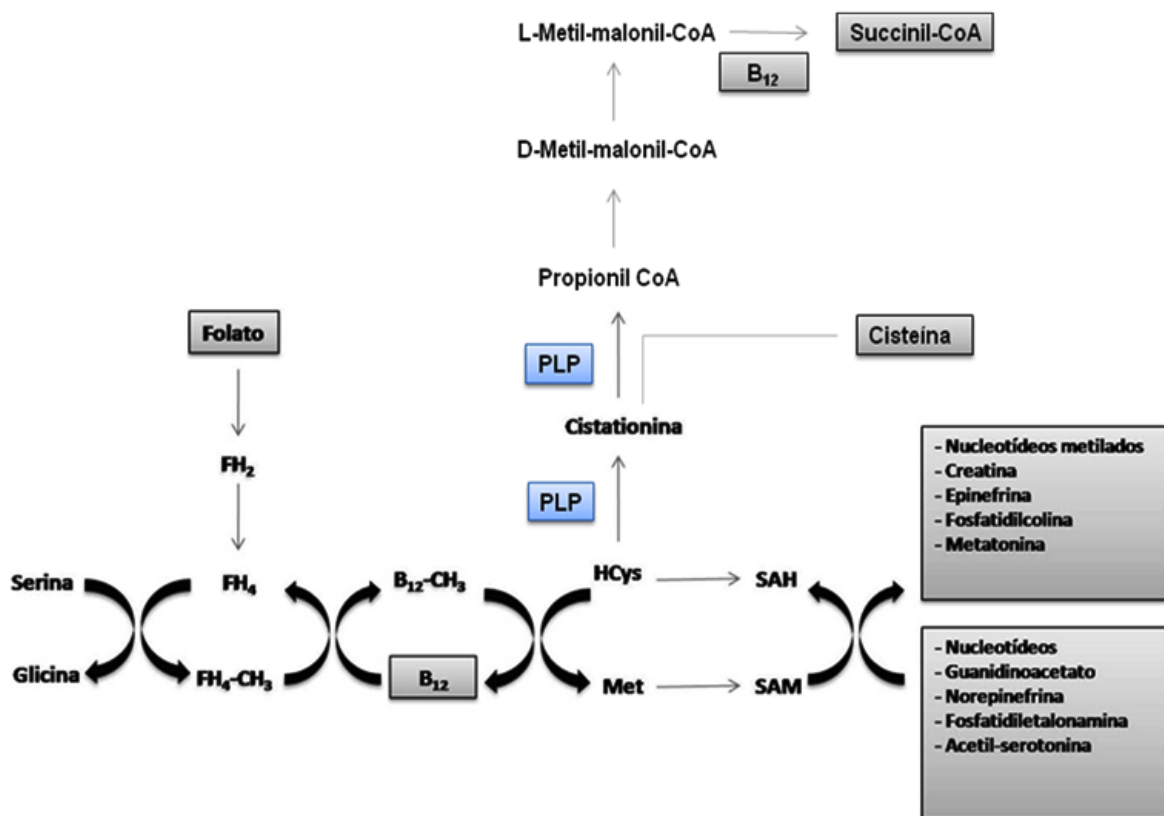
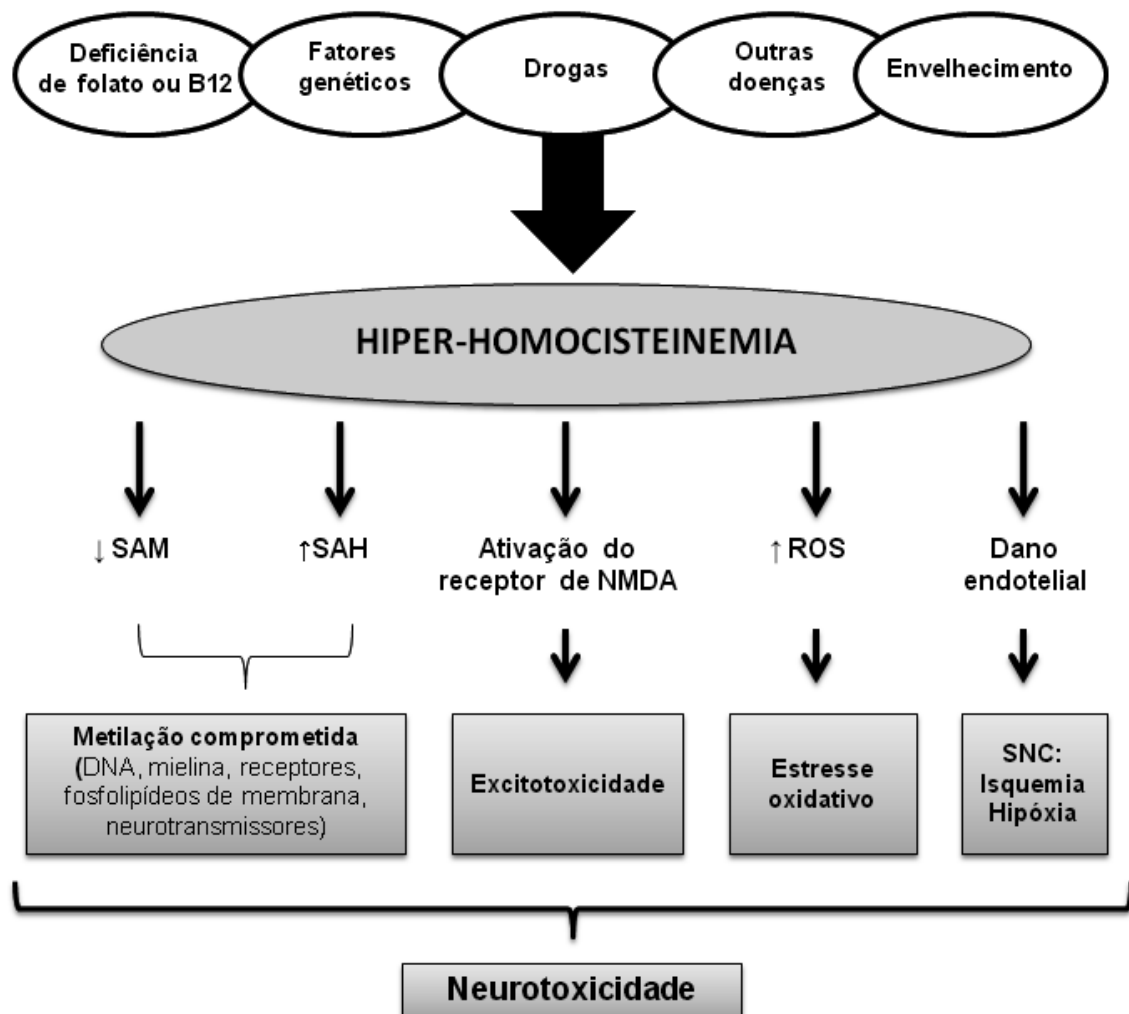
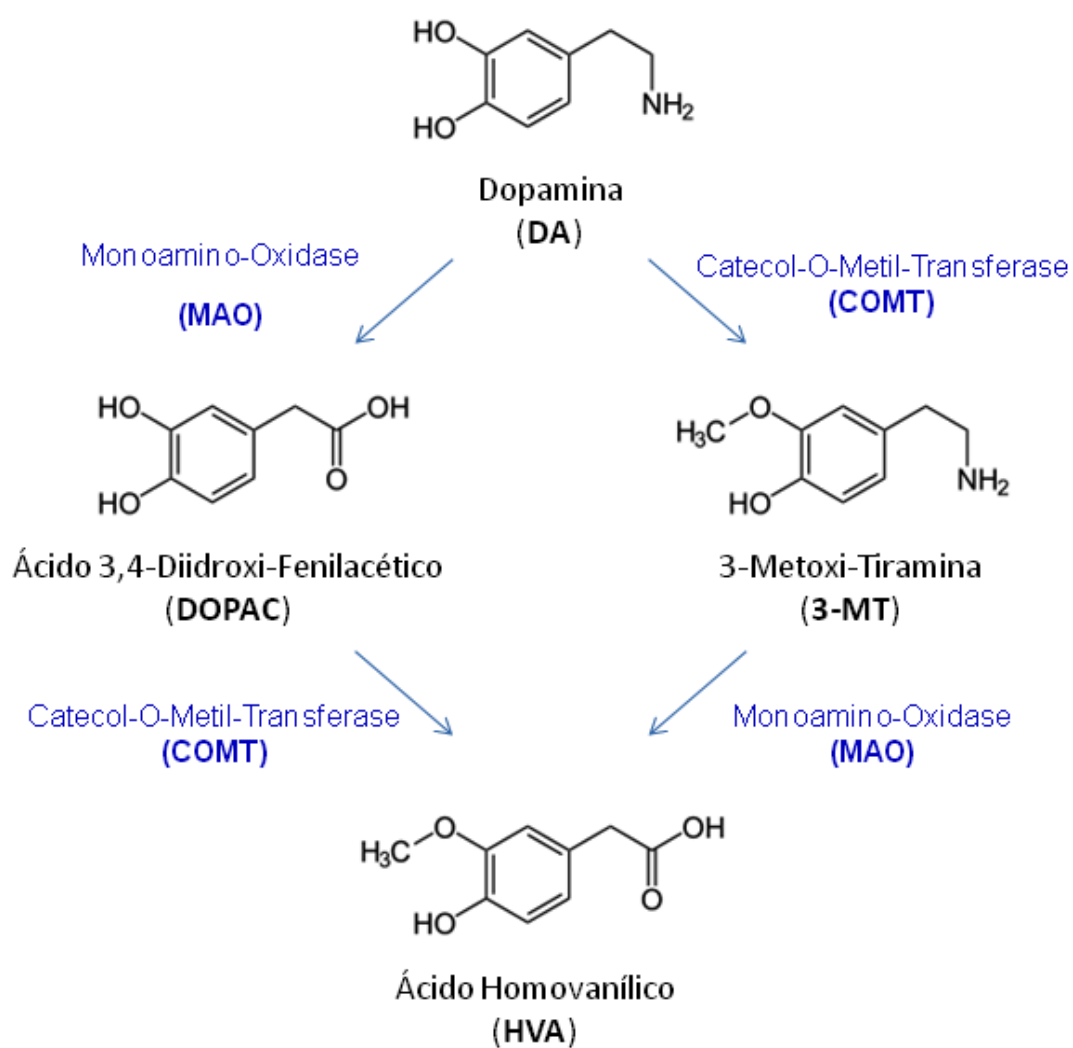


Figura 1.1. Metabolismo da metionina e suas implicações.



**Figura 1.2.** Mecanismos da neurotoxicidade associados à hiper-homocisteinemia.



**Figura 1.3.** Catabolismo da dopamina.

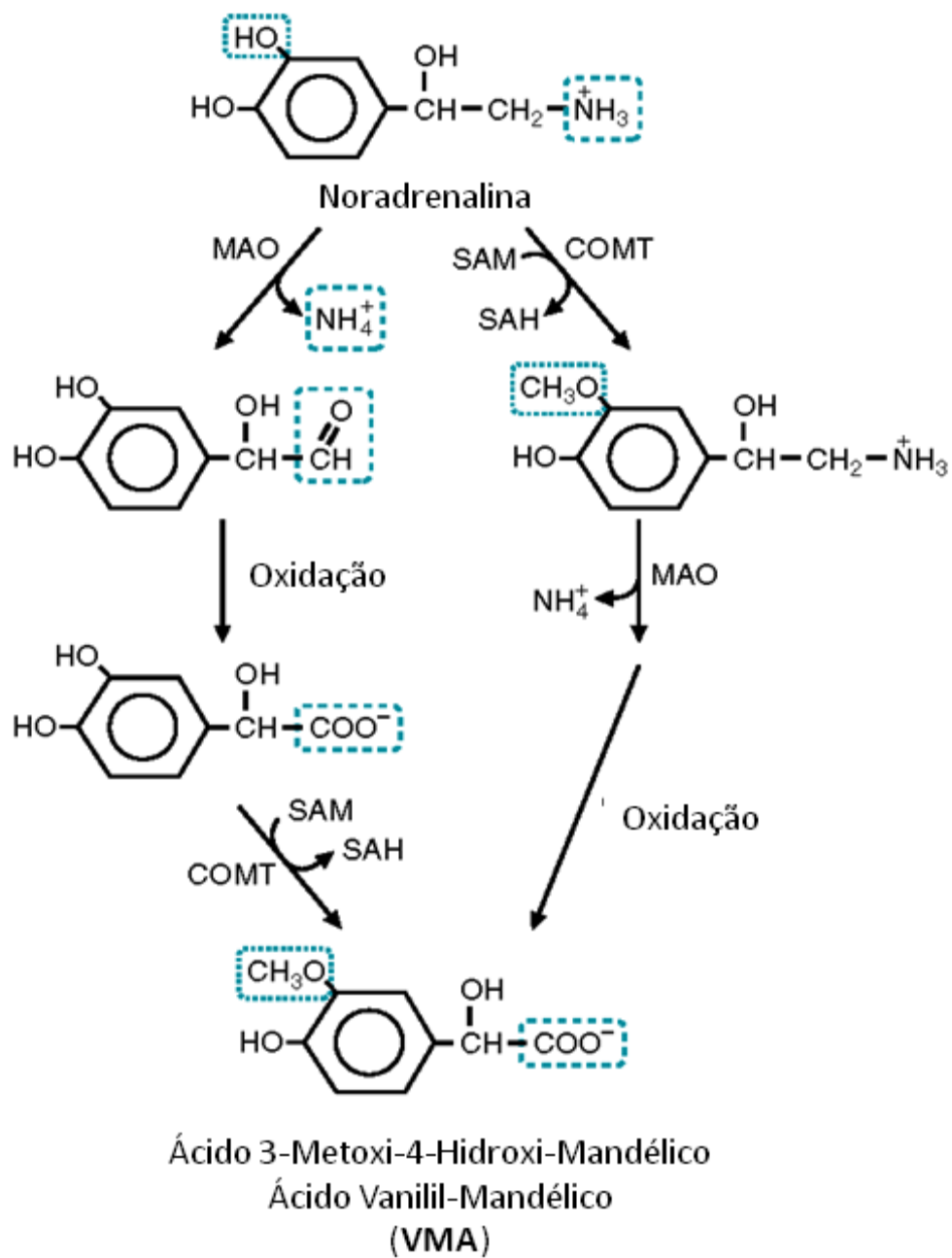


Figura 1.4. Catabolismo da noradrenalina.

## REFERÊNCIAS

Abou-Saleh, M.T.; Coppen, A. Serum and red blood cell folate in depression. **Acta Psychiatrica Scandinavica**, v.80, p.78-82, 1989.

Adams, P.B.; Lawson, S.; Sanigorski, A.; Sinclair, A.J. Arachidonic acid to eicosapentaenoic acid ratio in blood correlates positively with clinical symptoms of depression. **Lipids**, v.31, (suppl):S157-61, 1996.

Alberts, B.; Johnson, A.; Lewis, J.; Raff, M.; Roberts, K.; Walter, P. Membrane structure. In: Alberts, B. **Molecular Biology of the cell**. 4ed. New York:Garland Publishing Inc, 2002.

Aldrich, K.; Saunders, D.K. Comparison of erythrocyte osmotic fragility among ectotherms and endotherms at three temperatures. **Journal of Thermal Biology**, v.26, p.179-182, 2001.

Allen, H. R. **Anemias Megaloblásticas**. In: Cecil, R. L. Tratado de Medicina Interna. 21ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2004, 958-963p.

Alfthan, G.; Laurinen, M.S.; Valsta, L.M.; Pastinen, T.; Aro, A. Folate intake, plasma folate and tHcy status in a random Finnish population. **European Journal of Clinical Nutrition**, v.57, p.81-88, 2003.

Almeida, O. P.; Almeida, S. A. Confiabilidade da versão brasileira da Escada de Depressão em Geriatria. **Arquivos de Neuropsiquiatria**, v.57, p. 421- 426, 1999.

Aminoff, D. The role of sialoglycoconjugates in the aging and sequestration of red cells from circulation. **Blood Cells**, v.14, p.229-247, 1988.

Amur, S.G.; Shanker, G.; Cochran, J.M.; Ved, H.S.; Pieringer, R.A. Correlation between inhibition of myelin basic protein (arginine) methyltransferase by sinefungin and lack of compact myelin formation in cultures of cerebral cells from embryonic mice. **Journal of Neuroscience Research**, v.16, n.2, p.367- 376, 1986.

Arking, A.R. **Biology of aging: observations and principles**. 3ed. Oxford: Oxford University Press, 2006.

Azarin, J.M.; Bovier, P.; Chiaroni, P.; Dufour, H.; Gaillard, G.M.; Jeanningros, J.; Pringuey, D.; Raucoules, D.; Samuelian-Massat, C.; Widmer, J. Advanced 7 years study of erythrocyte membrane transport of monoamine precursors in 395 patients (335 depressed, 60 schizophrenic patients). **Encephale**, v.20, p.111-119, 1994.

Babin, F.; Sarda, P.; Limasset, B.; Decomps, B.; Rieu, D.; Mendy, F. Nervonic acid in red blood cell sphingomyelin in premature infants: an index of myelin maturation? **Lipids**, v.28, p.627-30, 1993.

Bains, J.S., Shaw, C.A. Neurodegenerative disorders in humans: the role of glutathione in oxidative stress-mediated neuronal death. **Brain Research Reviews**, v.25, n.3, p.335–358, 1997.

Batista, M.T.A.; Rodrigues, H.G.; Fonseca, L.C.; Bonetti, A.M.; Penha-silva, N.; Neres, A.C.; Aversi-ferreira, T.A. Estudo dos efeitos do pesticida da classe glicina substituída sobre eritrócitos humanos. **Revista Eletrônica de Farmácia**, Goiânia, v. 3 (supl.), n. 2, p. 22-24, 2006.

Bautista, M.L.; Altaf, W.; Lall, R.; Wapnir, R.A. Cord blood red cell osmotic fragility: a comparison between preterm and full-term newborn infants. **Early Human Development**, v.72, n.1, p.37-46, 2003.

Beckman, K.B.; Ames, B.N. The free radical theory of aging matures. **Physiological Reviews**, v.78, p.547-581, 1998.

Beekman, A.T.; Deeg, D.J.; van Tilburg, T.; Smit, J.H.; Hooijer, C.; van Tilburg, W. Major and minor depression in later life: a study of prevalence and risk factors. **Journal of Affective Disorders**, v. 36, p.65–75, 1995.

Bell, I.R.; Edman, J.S.; Selhub, J.; Morrow, F.D.; Marby, D.W.; Kayne, H.L.; Cole, J.O. Plasma tHcy in vascular disease and in nonvascular dementia of depressed elderly people. **Acta Psychiatrica Scandinavica**, v.86, p.386-390, 1992.

Bianchi, R.; Calzi, F.; Savaresi, S.; Sciarretta-Birollo, R.; Bellasio, R.; Tsankova, V.; Tacconi, M.T. Biochemical analysis of myelin lipids and proteins in a model of methyl donor pathway deficit: effect of S-adenosylmethionine. **Experimental Neurology**, v.159, n.1, p.258–266, 1999.

Blazer, D. Depression in the elderly. **New England Journal of Medicine**, v.320, p.164–166, 1989.

Blazer, D.G.; Kessler, R.C.; McGonagle, K.A.; Swartz, M.S. The prevalence and distribution of major depression in a national community sample: the National Comorbidity Survey. **American Journal of Psychiatry**, v.151, p.979-986, 1994.

Boon, J.M.; Smith, B.D. Chemical control of phospholipid distribution across bilayer membranes. **Medicinal Research Reviews**, v. 22, n. 3, p. 251-128, 2002.

Borson, S. Psychiatric problems in the medically ill elderly. In: **Comprehensive Textbook of Psychiatry**, 6ed. Edited by Kaplan HI, Sadock BJ. Baltimore, Williams & Wilkins, 1995, p 2586.

Borson, S.; Barnes, R.A.; Kukull, W.A.; Okimoto, J.T.; Veith, R.C.; Inui, T.S.; Carter, W.; Raskind, M.A. Symptomatic depression in elderly medical outpatients: I. prevalence, demography, and health service utilization. **Journal of the American Geriatrics Society**, v.34, p.341–347, 1986.

Botez, M.I.; Young, S.N.; Bachevalier, J.; Gauthier, S. Effect of folic acid and vitamin B12 deficiencies on 5-hydroxyindole acetic acid in human cerebrospinal fluid. **Annals of Neurology**, v.12, p.479-484, 1982.



Bottiglieri, T.; Laundry, M.; Martin, R.; Carney, M.W.P.; Nissenbaum, H.; Toone, B.K.; Johnson, A.L.; Reynolds, E.H. S-adenosylmethionine influences monoamine metabolism. **Lancet**, v.324, 1984.

Bottiglieri, T.; Hyland, K.; Laundry, M.; Godfrey, P.; Carney, M.W.P.; Toone, B.K. Folate deficiency, biopterin and monoamine metabolism in depression. **Psychological Medicine**, v.22, p.871-876, 1992.

Bottiglieri, T.; Hyland, K.; Reynolds, E.H. The clinical potential of ademetionine (S-adenosylmethionine) in neurological disorders. **Drugs**, v.48, p.137-152, 1994.

Bottiglieri, T.; Crellin, R.F.; Reynolds, E.H. Folate in neuropsychiatry. In: Baley, L.B. **Folate in health and disease**. New York:Marcel Dekker Inc., 1995.

Bottiglieri, T. Folate, vitamin B12 and neuropsychiatric disorders. **Nutrition Reviews**, v.54, p.382-390, 1996.

Bottiglieri, T.; Laundry, M.; Crellin, R.; Toone, B.K.; Carney, M.W.P.; Reynolds, E.H. Homocysteine, folate, methylation and monoamine metabolism in depression. **Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry**, v.69, p.228-232, 2000.

Bottiglieri T. Homocysteine and folate metabolism in depression. **Progress in Neuro-Psychopharmacology e Biological Psychiatry**, v.49, p.1103-1112, 2005.

Bourre, J.M.; Bonneil, M.; Chaudiere, J.; Clement, M.; Dumont, O.; Durand, G. Structural and functional importance of dietary polyunsaturated fatty acids in the nervous system. **Advances in Experimental Medicine and Biology**, v.318, p.211-229, 1992.

Brunello, N.; Mendlewicz, J.; Kasper, S.; Leonard, B.; Montgomery, S.; Craig Nelson, J.; Paykel, E.; Versiani, M.; Racagni, G. The role of noradrenaline and selective noradrenaline reuptake inhibition in depression. **European Neuropsychopharmacology**, v.12, p.461-475, 2002.

Brunswick, D.J.; Amsterdam, J.D.; Mozley, P.D.; Newberg, A. Greater availability of brain dopamine transporters in major depression shown by [99m Tc] TRODAT-1 SPECT imaging. **American Journal of Psychiatry**, v.160, p.1836-1841, 2003.

Callahan, C.M.; Hui, S.L.; Nienaber, N.A.; Musick, B.S.; Tierney, W.M. Longitudinal study of depression and health services use among elderly primary care patients. **Journal of the American Geriatrics Society**, v.42, p.833-838, 1994.

Caprari, P.; Scuterri, A.; Salvati, A.M.; Bauco, C.; Cantafora, A.; Masella, R.; Modesti, D.; Tarzia, A.; Marigliano, V. Aging and red blood cell membrane: a study of centenarians. **Experimental Gerontology**, v.34, p.47-57, 1999.

Carlson, S.E.; Carver, J.D.; House, S.C. High fat diets varying ratios of polyunsaturated to saturated fatty acids and linoleic acid: a comparison of rat neural and red cell phospholipids. **Nutrition Journal**, v.116, p.718-725, 1986.

Cascio, M. Connexins and their environment: effects of lipids composition on ion channels. **Biochemica et Biophysica Acta**, v. 1711, n. 2, p. 142-153, 2005.

Caspi, A.; Sugden, K.; Moffitt, T.E.; Taylor, A.; Craig, I.W.; Harrington, H.; MacClay, J.; Mill, J.; Martin, J.; Braithwait, A.; Poulton, R. Influence of life stress on depression: moderation by a polymorphism in the 5-HTT gene. **Science**, v.301, p.386-389, 2003.

Castrén, E. Neurotrophic effects of antidepressant drugs. **Current Opinion in Pharmacology**, v.4, p.1-7, 2004.

Cecil, R. L. Sequelas clínicas comuns do envelhecimento. In\_ Cecil, R. L. **Tratado de Medicina Interna**. 22ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2004, 120-127p.

Chiu, E.; Ames, D.; Draper, B.; Snowdon, J. Transtornos depressivos em idosos: uma revisão. In: Maj, M.; Sartorius, N. **Transtornos Depressivos**. 2ed. Porto Alegre: Editora Artes Médicas, 2005, 251-291p.

Connor, W.E.; Lin, D.S.; Neuringer, M. Is the docosahexaenoic acid (DHA 22:6,  $\omega$ -3) content of erythrocytes a marker for the DHA content of brain phospholipids? **FASEB Journal**, v.7, p.152, 1993.

Cooper, R.A. Modification of red cells membrane structure by cholesterol rich lipid dispersions. A model for the primary spur cell defect. **Journal of Clinical Investigation**, v.55, p.115-126, 1975.

Cristofalo, V.J.; Gerhard, G.S.; Pignolo, R.J. Molecular biology of aging. **The Surgical Clinics of North America**, v.74, p.1-21, 1994.

Cravo, M.L.; Gloria, L.M.; Selhub, J.; Nadeau, M.R.; Camilo, M.E.; Resende, M.P.; Cardoso, J.N.; Leitao, C.N.; Mira, F.C. Hyperhomocysteinemia in chronic alcoholism: correlation with folate, vitamin B12 and vitamin B6 status. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.63, p.220-224, 1996.

Cuenod, M.; Grandes, P.; Zangerle, L.; Streit, P.; Do, K.Q. Sulphurcontaining excitatory amino acids in intercellular communication. **Biochemical Society Transactions**, v. 21, n.1, p.72-77, 1993.

Danielli, J.F.; Davson, H. A contribution to the theory of permeability of thin films. **Journal of Cellular and Comparative**, v.5, p.495-508, 1935.

Deana, R.; Vincenti, E.; Deana, A.D. Levels of neurotransmitters in brain of vitamin B12 deficient rats. **International Journal for Vitamin and Nutrition Research**, v.47, p.119-122, 1977.

Di, L.; Liu, W.; Liu, Y.; Wang, J.Y. Effect of asymmetric distribution of phospholipids ghost membrane from rat blood on peroxidation induced by ferrous ion. **FEBS Letters**, v.580, p.685-690, 2006.

Do, K.Q.; Benz, B.; Binns, K.E.; Eaton, S.A.; Salt, T.E. Release of homocysteic acid from rat thalamus following stimulation of somatosensory afferents in vivo:

feasibility of glial participation in synaptic transmission. **Neuroscience**, v.124, n.2, p.387– 393, 2004.

Dougherty, R.M.; Galli, C.; Ferro-Luzzi, A.; Iacono, J.M. Lipid and phospholipid fatty acids composition plasma, red blood cells and platelets and how they are affected by dietary lipids: a study of normal subjects from Italy, Finland and USA. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v.45, p.443-455, 1987.

Du, L.; Faludi, G.; Palkovits, M.; Sotonyi, P.; Bakish, D.; Hrdina, P.D. High activity-related allele of MAO-A gene associated with depressed suicide in males. **Neuroreport**, v.13, p.1195-1198, 2002.

Elias, F.; Lucas, S.R.R.; Hagiwara, M.K.; Kogika, M.M.; Mirandola, M.S. Fragilidade osmótica eritrocitária em gatos acometidos por hepatopatias e gatos com insuficiência renal. **Ciência Rural**, v. 34, n. 2, p. 413-418, 2004.

Ewald, H. The serotonin transporter gene: function and psychopathology. **Nordic Journal of Psychiatry**, v.52, p.171-175, 1998.

Fleck, M.; Lafer, B.; Sougey, E.; Porto, J.; Brasil, M. Diretrizes da associação Médica Brasileira para o Tratamento de depressão. **Brás. Psiquiátric**, v.25, n.2, p.114-122, 2003.

Forlenza, O. V.; Caramelli, P. A. Epidemiologia do envelhecimento na América Latina. **Neuropsiquiatria Geriátrica**. São Paulo: Atheneu, 7-21p., 2000.

Frick, M.; Schmidt, K.; Nichols, B.J. Modulation of Lateral Diffusion in the Plasma Membrane by Protein Density. **Current Biology**, v. 17, n. 5, p. 462-467, 2007.

García, J.J.; Martínez-Ballarín, E.; Millán-Plano, S.; Allué, J.L.; Albandea, C.; Fuentes, L.; Escanero, J.F. Effects of trace elements on membrane fluidity. **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology**, v.19, n.1, p.19-22, 2005.

Garcetti, G.G.; Tranquilli, A.L.; Cugini, A.M.; Mazzanti, L.; Cester, N.; Romanini, C. Altered lipid composition, increased lipid peroxidation and altered fluidity of the membrane as evidence of platelet damage. **Journal of Parenteral and Enteral Nutrition**, v.25, n.6, p.352-355, 2001.

Gershon, H.; Gershon, D.; Altered enzyme function and premature sequestration of erythrocytes in aged individuals. **Blood cells**, v.14, p.93-101, 1988.

Glen, A.I.M.; Glen, E.M.T.; Horrobin, D.F.; Vaddadi, K.S.; Spellman, M.; Morse-Fischer, N. A red blood cell abnormality in a subgroup of schizophrenic patients: evidence for two diseases. **Schizophrenia Research**, v.12, p.53–61,1994.

Glen A.I.M.; Cooper, S.J.; Rybakowski, J.; Vaddadi, K.; Brayshaw, N.; Horrobin, D.F. Membrane fatty acids, niacin flushing and clinical parameters. **Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids**, v.55, p.9–15, 1996.

Goldberg, G.S.; Valiunas, V.; Brink, P.R. Selective permeability of gap junction channels. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1662, n. 1-2, p. 96-101, mar., 2004.

Gospe, S.M. Jr; Gietzen, d.W.; Summers, P.J.; Lunetta, J.M.; Miller, J.W.; Selhub, J.; Ellis, W.G.; Clifford, A.J. Behavioral and neurochemical changes in folate-deficient mice. **Physiology & Behavior**, v.58, p.935-941, 1995.

Gouvêa-e-Silva, L.F. Caracterização da estabilização de eritrócitos por etanol. Uberlândia, 2006, 53f. **Dissertação** (Mestrado) Universidade Federal de Uberlândia, Programa de Pós-Graduação em Genética e Bioquímica, Nilson Penha-Silva (Orientador).

Goyette, P.; Frosst, P.; Rosenblatt, D.S.; Rozen, R. Seven novel mutations in the methylenetetrahydrofolate reductase gene and genotype/ phenotype correlations in severe methylenetetrahydrofolate reductase deficiency. **The American Journal of Human Genetics**, v.56, n.5, p.1052– 1059, 1995.

Guarente, L. Mutant mice liver longer. **Nature**. v.402, p.243-245, 1999.

Guarente, L.; Kenyon, C. Genetic pathways that regulates ageing in model organismos. **Nature**, v.408, p.255-262, 2000.

Guyton, A.C. **Textbook of medical physiology**. Philadelphia: W.B. Sauner's Company, 1986.

Halliwell, B; Gutteridge, J.M.C. Oxidative stress: adaptation, damage, repair and death. In: Halliwell B, Gutteridge JMC, editors. **Free radicals in biology and medicine**. 3 ed. New York: OxfordUniversity Press; 1999, 246-350p.

Hayflick, L. **How and why we age**. New York: Balantine Books. 1994.

Hayflick, L. Mortality and immortality at the cellular level: a review. **Biochemistry**, v.62, n.11, p.1180-1190, 1997.

Hayflick, L. How and why we age. **Experimental Gerontology**, v.33, p.639-653, 1998.

Holloszy, J.O.; Schechtman, K.B. Interactions between exercise and food restriction: effects on longevity of males rats. **Journal of Applied Physiology**, v.70, p.1529-1535, 1991.

Homocysteine Lowering Tralists' Collaboration. Lowering blood homocysteine with folic acid based supplements: meta-analysis of randomised trials. **BMJ**, v.316, p.894-898, 1998.

Homocysteine Studies Collaboration. Homocysteine and risk of ischemic heart disease and stroke: a meta-analysis. **JAMA, Journal of the American Medical Association**, v.288, p.2015-2022.

Horton, R.H.; Moran, L.A.; Ochs, R.S.; Rawn, J.D.; Scrimgeour, K.G. **Principles of biochemistry**. 2ed. , New Jersey: Prentice-Hall, Upper Sadle River, 1996.

Hyland K.; Smith, I.; Bottigieri, T.; Perry, J.; Wendel, U.; Clayton, P.T.; Leonard, J.V. Demyelination and decreased S-adenosylmethionine in 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase deficiency. **Neurology**, v.38, p.459-462, 1988.

Ichimiya, T.; Suhara, T.; Sudo, Y.; Okudo, Y.; Nakayama, K.; Nankai, M.; Inoue, M.; Yasuno, F.; Takano, A.; Maeda, J.; Shibuya, H. Serotonin transporter binding in patients with mood disorders: a PET Study with [<sup>11</sup>C](+)McN5652. **Biological Psychiatry**, v,51, p.715-722, 2002.

Innis, S.M.; Davidson, A.G.; Chen, A.; Dyer, R.; Melnyk, S.; James, S.J. Increased plasma homocysteine and S-adenosylhomocysteine and decreased methionine is associated with altered phosphatidylcholine and phosphatidylethanolamine in cystic fibrosis. **Pediatrics**, v.143, n.3, p.351–356, 2003.

Ivanov, I.T.; Tolekova, A.; Chakaarova, P. Erythrocyte membrane defects in hemolytic anemias found through derivative thermal analysis of electric impedance. **Journal of Biochemical and Biophysical Methods**, v. 70, p. 641–648, 2007.

Jacques, P.F.; Kalmbach, R.; Bagley, P.J.; Russo, G.T.; Rogers, G.; Wilson, P.W.F.; Rosenberg, I.H.; Selhub, J. The relationship between riboflavin and plasma total tHcy in the Framington offspring cohort is influenced by folate status and the C677T transition in the methylenetetrahydrofolate reductase gene. **Journal of Nutrition**, v.132, p.283-288, 2002.

Jain, N.C. Hematology techniques. In: Jain, N.C. **Shalm's Veterinary Haematology**. Philadelphia:Lea&Febiger, 1986.

Jenkins, R.; Lewis, G.; Bebbington, P.; Brugha, T.; Farrell, M.; Gill, B.; Lewis, G.; Meltzer, H.; Petticrew, M. The National Psychiatric Morbidity surveys of Great Britain – initial findings from the household survey. **Psychological Medicine**, v.27, p.775-789, 1997.

Jones, B.E.; Yang, T.Z. The efferent projections from the reticular formation and the locus coeruleus studied by anterograde and retrograde axonal transport in the rat. **Journal of Comparative Neurology**, v. 242, p.56–92,1985.

Junqueira, L.C.; Carneiro, J. **Biologia celular e molecular**. 7ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000.

Kay, M.M.B.; Goodman, S.; Whitfield, C.; Wong, P.; Zaki, L.; Rudloff, V. The senescent cell antigen is immunologically related to band 3. **Proceedings of the National academy of Sciences of the United States of America**, v.80, p.1631-1638, 1984.

Kaufman, S. Regulatory properties of bipterin dependent hydroxylase: variation on a theme. In: Kaufman, S. **Function and regulation of monoamine enzymes**. New York: Macmillan, 1981.

Kendler, K.S.; Neale, M.C.; Maclean, C.J.; Heath, A.C. Eaves, L.J.; Kessler, R.C. Smoking and major depression: a causal analysis. **Archives of General Psychiatry**, v.50, p.36-43, 1993.

Kennedy, B.P.; Bottiglieri, T.; Arning, E.; Ziegler, M.G.; Hansen, L.A.; Masliah, E. Elevated S-adenosylhomocysteine in Alzheimer brain: influence on methyltransferases and cognitive function. **Journal of Neural Transmission**, v.111, n.4, p.547–567, 2004.

Kivelä, S.L.; Pahkala, K.; Laippala, P. Prevalence of depression in an elderly Finnish population. **Acta Psychiatry Scandinavica**, v.78, p.401-413, 1988.

Kloor, D.; Osswald, H. S-adenosylhomocysteine hydrolase as a target for intracellular adenosine action. **Trends in Pharmacological Sciences**, v.25, p.294-297, 2004.

Kosower, N.S. Altered properties of erythrocytes in the aged. **American Journal of Hematology**, v.42, p.241-247, 1993.

Kruman, I.I.; Culmsee, C.; Chan, S.L.; Kruman, Y.; Guo, Z.; Penix, L.; Mattson, M.P. Homocysteine elicits a DNA damage response in neurons that promotes apoptosis and hypersensitivity to excitotoxicity. **Journal of Neuroscience**, v.20, n.18, p.6920–6926, 2000.

Laasonen-Balk, T.; Kuikka, J.T.; Viinamaki, H.; Husso-Saastamoinen, M.; Lehtonen, J.; Tiihonen, J. Striatal dopamine transporter density in major depression. **Psychopharmacology**, v.144, p.282-285, 1999.

Laasonen-Balk, T.; Viinamaki, H.; Kuikka, J.T.; Husso-Saastamoinen, M.; Lehtonen, J.; Tiihonen, J. I-β-CIT binding and recovery from depression. A six-month follow-up study. **European Archives of Psychiatry and Clinical Neuroscience**, v.254, p.152-155, 2004.

Lague, P.; Zuckermann, M.J.; Roux, B. Lipid-Mediated Interactions between Intrinsic Membrane Proteins: Dependence on Protein Size and Lipid Composition. **Biophysical Journal**, v. 81, n. 1, p. 276-284, 2001.

Leclerc, D.; Campeau, E.; Goyette, P.; Adjalla, C.E.; Christensen, B.; Ross, M.; Eydox, P.; Rosenblatt, D.S.; Rozen, R.; Gravel, R.A. Human methionine synthase: cDNA cloning and identification of mutations in patients of the CblG complementation group of folate/cobalamin disorders. **Human Molecular Genetics Review**, v.5, p.1867-1874, 1996.

Le Fur, G., Phan, T., Canton, T., Tur, C., Uzan, A. Evidence for a coupling between dopaminergic receptors and phospholipid methylation in mouse B lymphocytes. **Life Science**, v.28:29,n.26, p. 2737–2749, 1981.

Lemondé, S.; Turecki, G.; Bakish, D.; Du, L.; Hrdina, P.D.; Bown, C.D.; Sequeira, A.; Kushwaha, N.; Morris, S.J.; Basak, A.; Ou, X.M.; Albert, P.R. Impaired repression at a 5-hydroxytryptamine 1A receptor gene polymorphism associated

with major depression and suicide. **Journal of Neuroscience**, v.23, p.8788-8799, 2003.

Leonard, B.E. Evidence for a biochemical lesion in depression. **Journal of Clinical Psychiatry**, v.61, p.12-17, 2003.

Lindeman, S.; Hamalainen, J.; Isometsa, E.; Kaprio, J.; Poikolainen, K.; Heikkinen, M.; Aro, H. The 12-month prevalence and risk factors for major depressive episode in Finland: representative sample of 5993 adults. **Acta Psychiatrica Scandinavica**, v.102, p.178-184, 2000.

Lipton, S.A., Kim, W.K., Choi, Y.B., Kumar, S., D'Emilia, D.M., Rayudu, P.V., Arnette, D.R., Stamler, J.S. Neurotoxicity associated with dual actions of homocysteine at the N-methyl-d-aspartate receptor. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v.94, n.11, p.5923– 5928, 1997.

Lithgow, G.J. Molecular genetics of *Caenorhabditis elegans*. In: Schneider, E.L.; Rowe, J.W. **Handbook of Biology of Aging**. San Diego: Academic Press, 1996, 55-73p.

Lodish, H.; Berk, A.; Matsudaira, P.; Kaiser, C.A.; Krieger, M.; Scott, M.P.; Zipursky, S.L.; Darnell, J. **Molecular cell biology**. 5ed. New York: W.H. Freeman and Company, 2003.

Mackay, W.J.; Orr, W.C.; Bewley, G.C. Genetic and molecular analysis of antioxidant enzymes in *Drosophila melanogaster*: a correlation between catalase activity levels, life span and spontaneous mutation rate. In: Finch, C.E.; Johnson, T.E. **Molecular Biology of aging**. New York:Wiley-Liss, 1990, 157-170p.

Maede, Y. Studies on feline haemobartonellosis. VI. Changes of erythrocyte lipids concentration and their relation to osmotic fragility. **Japanese Journal of Veterinary Science**, v.42, n. 3, p. 281-288, 1980.

Makinde, M.O.; Bobade, P.A. Osmotic fragility of erythrocytes in clinically normal dogs and dogs infected with parasites. **Research in Veterinary Science**, v. 57, n. 3, p. 343-348, 1994.

Mannisto, S.; Ovaskainen, M-L.; Valsta, L. **Finvarinto 2002 – tutkimus. The National Finndiet 2002 Study**. Helsinki: Hakapaino Ou, 2003.

Marigliano, V.; Tarzia, A.; Modesti, D.; Masella, R.; Cantafora, A.; Bauco, C.; Salvati, A.M.; Scuterl, A.; Caprarl, P. Aging and red blood cell membrane: a study of centenarians. **Experimental Gerontology**, v.34, n.1, p.47-57, 1999.

Mazzanti, L.; Franceschi, C.; Nanetti, L.; Salvolini, E.; Staffolani, R.; Moretti, N.; Rabini, R.A. Reduced susceptibility to peroxidation of erythrocyte plasma membranes from centenarians. **Experimental Gerontology**, v. 37, p. 657-663, 2002.

Mcneil, P.L.; Steinhardt, R.A. Loss, restoration, and maintenance of plasma membrane integrity. **The Journal of Cell Biology**, v.137, p.1-4, 1997.

Mcavoy, L.; Williamson, P.; Schlegel, R.A. Membrane phospholipids asymmetry as a determinant of erythrocyte recognition by macrophages. **Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America**, v.83, p.3311-3315, 1986.

Makrides, M.; Neumann, M.A.; Byard, R.W.; Simmer, K.; Gibson, R.A. Fatty acid composition of brain, retina and erythrocytes in breast and formula-fed infants. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.60, p.189–194, 1994.

Meltzer HL. Is there a specific membrane defect in bipolar disorders? **Biological Psychiatry**, v.30, p.1071–1074, 1991.

Meyers, B.S.; Sirey, J.A.; Bruce, M. Predictors of early recovery from major depression among persons admitted to community-based clinics. An observation study. **Archives of General Psychiatry**, v.59, p.729-735, 2002.

Mischoulon, D.; Fava, M. Role of S-adenosyl-L-methionine in the treatment of depression: a review of the evidence. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.76, p.1158-1161, 2002.

Moeckel, G.W., Shadman R., Fogel J.M., Sadrzadeh S.M.H. Organic osmolytes betaine, sorbitol and inositol are potent inhibitors of erythrocytes membrane ATPase. **Life Sciences**, v.71, n.20, p. 2413-2424, 2002.

Morley, J. E. Anorexia in older persons: epidemiology and optimal treatment. **Drugs Aging**, v.8, p.134-155, 1996.

Mota, M.P.; Figueiredo, P.A.; Duarte, J.A. Teorias biológicas do envelhecimento. **Revista Portuguesa de Ciências do Desporto**, v.4, n.1, p.81-110, 2006.

Murray, R.K.; Granner, D.K. Membranas: estrutura, montagem e função. In: Granner, D.K.; Mayes, P.A.; Rodwell, V.W. **Harper's Biochemistry**. 9ed. São Paulo: Atheneu Editora, 2002.

Mutus, B.; Rabini, R.A.; Franceschi, C.; Paolisso, G.; Rizzo, M.R.; Ragno, E.; Rapelli, A.; Braconi, M.; Mazzanti, L. Cellular resistance to homocysteine: a key for longevity? **Atherosclerosis**, v.152, p.527-528, 2000.

Nagatsu, T. Progress in monoamine oxidase (MAO) research in relation to genetic engineering. **Neurotoxicology**, v.25, p.11-20, 2004.

Nelson, D.L.; Cox, M.M. **Lehninger Principles of Biochemistry**, 4ed., New York: Worth, 2005.

Neumeister, A. Tryptophan depletion, serotonin and depression: where do we stand? **Psychopharmacol Bull**, v.37, p.99-115, 2003.

Olivieri, O.; Stanzial, A.M.; Girelli, D.; Trevisan, M.T.; Guarini, P.; Terzi, M.; Caffi, S.; Fontana, F.; Casaril, M.; Ferrari, S.; Corrocher, R. Selenium status, fatty acids, vitamins A and E, and aging. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v.60, p.510-517, 1994.



Olney, J.W. Excitatory amino acids and neuropsychiatric disorders. **Biological Psychiatry**, v.26, n.5, p.505– 525, 1989.

Onaran I, Yalçın AS, Sultuybek G. Effect of donor age on the susceptibility of erythrocytes and erythrocyte membranes to cumene hydroperoxide-induced oxidative stress. **Mechanisms of Ageing and Development**, v.98, n.2, p.127-38, 1997.

Orr, W.C.; Sohal, R.S. Extension of life-span by overexpression of superoxide dismutase and catalase in *Drosophila melanogaster*. **Science**, v.263, p.1128-1130, 1994.

Oxman TE, Barrett JE, Barrett J, Gerber P . Symptomatology of late-life minor depression among primary care patients. **Psychosomatics**, v.31, p.174–180, 1990.

Ozturk, L.; Mansour, B.; Yuksel, M.; Gokhan, N. Lipid peroxidation and osmotic fragility os red blood cells in sleep-apnea patients. **Clinica Chimica Acta**, v.332, p.83-88, 2003.

Pahkala, K.; Kesti, E.; Kongas-Saviaro, P.; Laippala, P.; Kivelä, S.L. Prevalence of depression in na aged population in Finland. **Social Psychiatry and Psychiatric Epidemiology**, v.30, p.99-106, 1995.

Paradela, E. M. P.; Lourenço, R. A.; Veras, R. P. Validação da escala de depressão geriátrica em um ambulatório geral. **Revista Saúde Pública**, v.39, n.3, p.918-923, 2005.

Parnetti, L.; Bottiglieri, T.; Lowenthal, D. Role of tHcy in aged-related vascular and non-vascular diseases. **Ageing Clinical and Experimental Research**, v.9, p.241-257, 1997.

Parpart, A.K.; Lorenz, P.B.; Parpart, E.R The osmotic resistance (fragility) of human red cells. **Journal of Clinical Investigation**, v.26, n.4, p.636-640, 1947.

Penha-Silva, N.; Firmino, C.B.; Reis, F.G.F.; DA Costa Huss, J. C.; DE Souza, T. M. T.; DE Freitas, M. V.; Netto, R. C. M. Influence of age on the stability of human erythrocyte membranes. **Mechanisms of ageing and development**, v. 128, p. 444-449, 2007.

Perk, K.; frei, Y.F.; Herz, A. Osmotic fragility of red blood cells of young and mature domestic and laboratory animals. **American Journal Veterinary Research**, v.25, p.1241-1248, 1964.

Prisco, D.; Rogasi, P.G.; Paniccia, R.; Abbate, R.; Gensini, G.F. Age-related changes in red blood cell lipids. **Angiology**, v.42, p.316-322, 1991.

Pulska, T.; Pahkala, K.; Laippala, P.; Kivelä, S-L. Follow up study of lonstanding depression as predictor of mortality in elderly people living in the community. **BMJ**, v.318, p.432-433, 1999.

Rabini, R.A.; Moretti, N.; Staffonlani, R.; Salvolini, E.; Nanetti, L.; Franceschi, C.; Mazzanti, L. Reduced susceptibility to peroxidation of erythrocyte plasma membranes from centenarians. **Experimental Gerontology**, v.37, p.657-663, 2002.

Refsum, H.; Smith, A.D.; Ueland, P.M. Facts and recommendations about total homocysteine determinations: an expert opinion. **Clinical Chemistry**, v.50, p.3-32, 2004.

Reynolds, E.H.; Carney, M.W.P.; Toone, B.K. Methylation and mood. **Lancet**, v.324, p.196-199, 1984.

Reynolds, C.F.; Kupfer, D. Depression and Aging: A Look to the Future. **Psychiatric Services**, v. 50, n.9, p.1167-1172, 1999.

Rifkind, J.M.; Araki, K.; Hadley, E.C. The relationship between the osmotic fragility of human erythrocytes and cell age. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v.222, n.2, p.582-589, 1983.

Robertson, J. D. The cell membrane concept. **Journal of Physiology**, v. 140, p. 58-59, 1957.

Robertson, J. D. The molecular structure and contact relationship of cell membranes. **Biophysics and Biophysical Chemistry**, v.10, p. 344-418, 1960.

Rosen, R. Molecular genetics of methylenetetrahydrofolate reductase deficiency. **Journal of Inherited Metabolic Disease**, v.19, p.589-594, 1996.

Rosenblatt, D.S., Erbe, R.W. Methylenetetrahydrofolate reductase in cultured human cells: II. Genetic and biochemical studies of methylenetetrahydrofolate reductase deficiency. **Pediatric Research**, v.11, n.11, p.1141-1143, 1977.

Samuels, S.; Brickman, A.; Burd, J.; Purohit, D.; Qureshi, P.; Serby, M. Depression in autopsy-confirmed dementia with Lewy bodies and Alzheimer's disease. **Mount Sinai Journal of Medicine**, v.71, n.1, p.55-62, 2004.

Sasaki, S. Red cell lipids in patients with end-stage renal failure: relationship to osmotic fragility. **Osaka City Medical Journal**, v.23, n.1, 85-89, 1977.

Schneede, J., Refsum, H., Ueland, P.M. Biological and environmental determinants of plasma homocysteine. **Seminars in Thrombosis and Hemostasis**, v.26, n.3, p.263-279, 2000.

Schoevers, R.A.; Beekman, A.T.F.; Deeg, D.J.H.; Hooijer, C.; Jonker, C.; van Tilburg, W. The natural history of late-life depression: results from the Amsterdam Study of the Elderly (AMSTEL). **Journal of Affective Disorders**, v.76, p.5-14, 2003.

Selhub, J.; Jacques, P.H.; Wilson, P.W.F.; Rush, D.; Rosenberg, I.H. Vitamin status and intake as primary determinants of homocysteinemia in an elderly population. **JAMA**, v.270, p.2693-2698, 1993.

Sengupta, N.; Datta, S.C.; Sengupta, D. Platelet and erythrocyte membrane lipid and phospholipid patterns in different types of mental patients. **Biochemical Medicine**, v.25, p.267–275, 1981.

Sharma, A., Waly, M., Deth, R.C. Protein kinase C regulates dopamine D4 receptor-mediated phospholipid methylation. **European Journal of Pharmacology**, v.427, n.2, p.83– 90, 2001.

Shekh, J. I.; Yessage, J.A. Geriatric depression scale (GDS): recent evidence and development of a shorter version. **Clinical Gerontology**, v. 5:165-73, 1986.

Shorvon, S.D.; Carney, M.W.P.; Chanarin, I.; Reynolds, E.H. The neuropsychiatry of megaloblastic anemia. **British Medical Journal**, v.281, p.1036-1042, 1980.

Silaste, M.L.; Rantala, M.; Alftan, G.; Aro, A.; Kesaniemi, Y.A. Plasma homocysteine concentration is decreased by dietary intervention. **British Journal of Nutrition**, v.89, p.295-301, 2003.

Singer S. J. The molecular organization of membranes. **Annual Review of Biochemistry**, v. 43, n. 1, p. 805-833, 1974.

Singer, S.J.; Nicholson, G.L. The fluid mosaic model of the structure of the cell membranes. **Science**, v.175, p.720-731, 1972.

SirichotiyakuL, S.; Tantipalakon, C.; Sanguansermisri, T.; Wanapirak, C.; Tongsong, T. Erythrocyte osmotic fragility test for screening of alpha-thalassemia-1 and beta-thalassemia trait in pregnancy. **International Journal of Gynecology and Obstetrics**, v. 86, p. 347-350, 2004.

Sohal, R.S.; Sohal, B.H.; Orr, W.C. Mitochondrial superoxide and hydrogen peroxide generation, protein oxidative damage and longevity in different species of flies. **Free Radical Biology & Medicina**, v.19, p.499-504, 1995.

Sohal, R.S.; Weindruch, R. Oxidative stress, calorific restriction and aging. **Science**, v.273, p.59-63, 1996.

Spector, R. Cerebrospinal fluid folate and the blood-brain barrier. In: Botez, M.I.; Reynolds, E.H. **Folic acid in neurology, psychiatry and internal medicine**. New York: Raven Press, 1979.

Srinivasan, K.; Kempaiah, R.K. Beneficial influence of dietary curcumin, capsaicin and garlic on erythrocyte integrity in high-fat fed rats. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v.17, p.471-478, 2006.

Stabler, S.P.; Allen, R.H.; Saavge, D.G.; Lindbaum, J. Clinical spectrum and diagnosis of cobalamin deficiency. **Blood**, v.76, p.871-881, 1990.

Steffens, D.C.; Levy, R.M.; Wagner, R.; McQuoid, D.R.; Krishnan, K.R.; Carroll, B.J. Sociodemographic and clinical predictors of mortality in geriatric depression. **American Journal of Geriatric Psychiatry**, v.10, p.531-540, 2002.

Stevens, J.D. The distribution of phospholipid fractions in red cell membranes of schizophrenics. **Schizophrenia Bulletin**, v.6, p.60–61, 1972.

Strobel, A.; Gutknecht, L.; Rothe, C.; Reif, A.; Mossner, R.; Zeng, Y.; Brocke, B.; Lesch, K.P. Allelic variation in 5-HT receptor expression is associated with anxiety- and depression-related personality traits. **Journal of Neural Transmission**, v.110, p.1445-1453, 2003.

Suess, J.; Limentani, D.; Dameshesk, W. Quantitative method for the determination and charting of the erythrocytes hypotonic fragility. **Blood**, v.3, p.1290-1303, 1978.

Telen, M.J.; Kaufman, R.E. The mature erythrocyte. In: Lee, G.R. et al. **Wintrobe's Clinical Hematology**. Baltimore: Williams&Wilkins, 1999.

Trentini, C.; Xavier, F.; Chachamovic E.; Rocha, N.; Hirakata, V.; Fleck, M. The influence of somatic symptoms on the performance of elderly in the Beck Depression Inventory (BDI). **Revista Brasileira de Psiquiatria**, v.27, b.2, p.119-123, 2005.

Tsuda, K.; Nishio, I. Membrane fluidity and hypertension. **American journal of hypertension**, v. 16, n. 3, p. 259-261, 2003.

van den Berg, M.D.; Oldehinkel, A.T.F.; Albertine, J.; Bouhuys, A.L.; Brilman, E.L.; Beekman, A.T.F.; Ormel, J. Depression in later life: three etiologically different subgroups. **Journal of Affective Disorders**, v.65, p.19-26, 2001.

van Dyck, C.H.; Malison, R.T.; Staley, J.K.; Jacobsen, L.K.; Seibyl, J.P.; Laruelle, M.; Baldwin, R.M.; Innis, R.B.; Gelernter, J. Center serotonin transporter availability measured with [<sup>123</sup>I]β-CIT SPECT in relation to serotonin transporter genotype. **American Journal of Psychiatry**, v.161, p.525-531, 2004.

Vetta, F.; S. Ronzoni, M.R. Lupatelli, L. Palleschi, M. Migliori, E. De Gennaro, P.F.A. Lato, P. Cicconetti and V. Marigliano. Metabolic alterations in malnourished, depressed aged subjects. **Archives of Gerontology and Geriatric**, v. 6, p. 525-530, 1999.

Wagner, C. Biochemical role of folate in cellular metabolism. In: Bailey, L.B. **Folate in health and disease**. New:York:Marcel Dekker Inc., 1995.

Wang, Y.; Cohen, J.; Boron, W.F.; Schulten, K.; Tajkhorshid, E. Exploring gas permeability of cellular membranes and membrane channels with molecular dynamics. **Journal of Structural Biology**, v. 157, p. 534-544, 2007.

Weed, R.I.; Reed, C.F. Membrane alterations leading to red cell destruction. **The American Journal of medicine**, v.41, p.681-694.

White, A.R.; Huang, X.; Jobling, M.F.; Barrow, C.J.; Beyreuther, K.; Masters, C.L.; Bush, A.I.; Cappai, R. Homocysteine potentiates copper- and amyloid beta peptide-mediated toxicity in primary neuronal cultures: possible risk factors in the

Alzheimer's-type neurodegenerative pathways. **Journal of Neurochemistry**, v.76, n.5, p.1509– 1520, 2001.

Williams, W.J. Haematology in the aged. In: Beutler, E.; Lichtman, M.A.; Coller, B.S.; Kipps, T.J. **Williams Haematology**, 5ed, New York: McGraw-Hill Inc., 1995.

Wu, A.; Chanarin, I.; Slavin, G.; Levi, A.J. Folate deficiency in the alcoholic: its relationship to clinical and haematological abnormalities, liver disease and folate stores. **British Journal of Haematology**, v.29, p.469-478, 1975.

Wustner, D. Fluorescent sterols as tools in membrane biophysics and cell biology. **Chemistry and Physics of Lipids**, v. 146, p. 1-25, 2007.

Zauber, N.P.; Zauber, A.G. Haematologic data of healthy very old people. **The Journal of the American Medical Association**, v.257, p.2181-2184, 1987.

Zubay, G.L.; Parsom, W.W.; Vanse, D.E. **Principles of biochemistry**. Dubuque, US:WMC Braun Communications, Inc., 1995.

Zubenko, G.; Zubenko, W.; MacPherson, S.; Spoor, E.; Marin, D.; Farlow, M.; Smith, G.; Geda, Y.; Cummnings, J.; Petersen, R.; Sunderland, T. A collaborative study of the emergence and clinical features of the major depressive syndrome of Alzheimer's disease. **American Journal of Psychiatry**, v.160, p.857-866, 2003.

## **CAPÍTULO 2**

### **TRABALHO EXPERIMENTAL**

#### **ESTABILIDADE DE MEMBRANA DE ERITRÓCITOS EM PORTADORES DE DEPRESSÃO**

## RESUMO

A depressão no idoso tem sido apresentada como uma condição neurodegenerativa associada ao ganho de idade, deficiências de folato e/ou cobalamina, elevação nos níveis séricos de homocisteína e alterações na composição e comportamento de membranas biológicas. Com o objetivo de testar a validade das relações entre depressão, envelhecimento, desnutrição geral, deficiências seletivas de folato e cobalamina, homocisteinemia e estabilidade de membranas, 73 pacientes ambulatoriais geriátricos do Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia foram avaliados em estudo observacional transversal prospectivo. O estado nutricional foi estimado com utilização do instrumento “Mini-Nutritional-Assessment” (MNA). A depressão foi detectada com a utilização do instrumento “Geriatric Depression Scale” (GDS). A estabilidade de membranas foi avaliada contra choque hipotônico em eritrócitos por espectrofotometria e expressa pelo ponto de meia-transição ( $H_{50}$ ) da curva sigmoideal de hemólise. Os valores de MNA apresentaram correlações significantes apenas com o aumento da idade, mas não com os níveis sanguíneos de folato, cobalamina e homocisteína. Os escores de GDS apresentaram correlações significantes apenas com o aumento da idade, mas não com os níveis séricos de folato, cobalamina e homocisteína. Os valores de  $H_{50}$  não apresentaram correlações significantes com a idade, escores de GDS, variáveis hematológicas e níveis séricos de folato e cobalamina, mas apresentaram uma correlação negativa significativa com os níveis de homocisteína. O risco de desnutrição geral, os escores de GDS e as concentrações de homocisteína aumentaram com o aumento da idade, mas não apresentaram relações com os níveis séricos de folato e/ou cobalamina. A estabilidade de membrana de eritrócitos não apresentou relações com a idade nem com variáveis hematológicas, mas aumentou com o aumento nos níveis de homocisteína. Possíveis implicações e as razões para a associação entre estabilidade de membranas e hiper-homocisteinemia são discutidas.

**Palavras-chave:** Depressão, envelhecimento, folato, cobalamina, homocisteína, estabilidade de membrana, eritrócitos



## ABSTRACT

Depression in the elderly has been presented as a neurodegenerative condition associated with increased age, deficiencies of folate and/or cobalamin, elevated serum levels of homocysteine and changes in the composition and behavior of biological membranes. Aiming to test the validity of the relationships between depression, aging, general malnutrition, folate and cobalamin deficiencies, homocysteinemia and stability of membranes, 73 geriatric outpatients of the Clinical Hospital of the Federal University of Uberlândia, were evaluated in a prospective, observational, cross-sectional study. Nutritional status was estimated using the Mini-Nutritional Assessment (MNA). Depression was detected using the Geriatric Depression Scale (GDS). The stability of membranes was assessed in erythrocytes against hypotonic shock by spectrophotometry and expressed by the half-point of transition ( $H_{50}$ ) of the sigmoidal curve of hemolysis. The values of MNA showed significant correlations only with age but not with blood levels of folate, cobalamin and homocysteine. The GDS scores showed significant correlations only with age but not with serum levels of folate, cobalamin and homocysteine. The values of  $H_{50}$  did not show significant correlations with age, scores of GDS, hematologic variables and serum levels of folate and cobalamin, but showed a significant negative correlation with the levels of homocysteine. The overall risk of malnutrition, the scores of GDS and the concentrations of homocysteine increased with age, but showed no relationship with serum levels of folate and/or cobalamin. The stability of the erythrocyte membrane showed no relationship with age or with haematological variables, but increased with increased levels of homocysteine. Possible implications and the reasons for the association between the stability of membranes and hyper-homocysteinemia are discussed.

**Keywords:** Depression, aging, folate, cobalamin, homocysteine, stability of membrane, erythrocytes.

## INTRODUÇÃO

A alta frequência das morbidades presentes nos idosos, em especial as doenças crônicas degenerativas, bem como o próprio envelhecimento do organismo, leva a alterações importantes [CECIL, 2004]. Diversas pesquisas têm sugerido uma relação direta entre essas alterações, especialmente as metabólicas e hematológicas, com o estado nutricional e as desordens psiquiátricas em idosos [MORLEY, 1996]. Uma das desordens mais comuns no idoso é a depressão, que contribui substancialmente para o declínio da qualidade de vida.

A deficiência de vitaminas vem sendo apontada como importante promotora do desenvolvimento e da manutenção da depressão. Esta deficiência é freqüente nos idosos não só devido a carências nutricionais, mas também a diversas alterações fisiológicas que ocorrem no organismo em envelhecimento [PAPAKOTAS, 2005; CECIL, 2004; D'ANCI, ROSENBERG, 2004].

Muitos estudos têm mostrado uma alta incidência de deficiências de folato e cobalamina (vitamina B<sub>12</sub>) associadas com sintomas mentais, especialmente depressão e declínio cognitivo, em populações geriátricas e psicogeriatricas [BOTTIGLIERI et al., 1995; REYNOLDS, 2000; BELL et al., 1991; PENNIX et al., 2000; TIEMEIER et al., 2002]. Concomitante a essas carências vitamínicas, tem-se alteração no metabolismo de homocisteína, um aminoácido não essencial que é produzido a partir da desmetilação da metionina (Met). A homocisteína (Hcy) pode ser remetilada em Met pela metionina-sintetase, a qual é dependente de folato e cobalamina, como também pode ser catabolizada em cisteína (via transulfuração) pela cistationina-β-sintase e cistationinase, enzimas dependentes de piridoxina (vitamina B<sub>6</sub>). Uma terceira via para remover a homocisteína é sua conversão em S-adenosilhomocisteína (SAH), numa seqüência de reações em que a última reação, que é catalisada pela SAH-hidrolase, favorece a formação de SAH no caso de aumento das concentrações de Hcy. A SAH é formada a formada a partir da S-adenosilmetionina (SAM), que é doadora de grupos metila, oriundos da Met, em reações catalisadas por metil-transferases [KLOOR, OSSWALD, 2004].

Bottiglieri e colaboradores [2000] relataram que Hcy está significativamente elevada em pacientes com depressão. Eles sugeriram que o aumento na Hcy total (tHcy) de seus pacientes seria decorrente de deficiência na remetilação de Hcy a Met devido a deficiência na oferta de grupos metila. Em consistência com aqueles resultados, Tolmunen e colaboradores [2004] sugeriram que altas concentrações de Hcy estariam associadas com depressão em homens de meia idade.

Entretanto, as deficiências de folato e cobalamina e elevação da homocisteína observadas na depressão poderiam ser causa ou conseqüência da doença. Pode-se argumentar que depressão em idosos leva a uma ingestão reduzida de folato e cobalamina, causando elevações nos níveis de Hcy [CLARKE et al., 2003], mas também que baixos níveis daquelas vitaminas promoveriam depressão em decorrência de deficiência em reações de metilação no cérebro [BOTTIGLIERI et al., 1994].

Evidência para associação entre Hcy e neurotransmissores é encontrada em estudos que medem diretamente os metabólitos dos neurotransmissores ou em estudos que demonstraram o efeito antidepressivo de folato e SAM [BOTTIGLIERI et al., 2000]. A relação entre Hcy e neurotransmissores é indiretamente sugerida por estudos que mostraram ser possível modificar o humor por alteração na via da Hcy. A SAM, que é intermediária nessa via, pode funcionar como antidepressivo, sendo seu efeito superior ao placebo e comparável aos antidepressivos tricíclicos padrões [BRESSA, 1994; BOTTIGLIERI, HYLAND, 1994]. A melhora no humor conseqüente à suplementação de SAM e folato sugere o envolvimento da via da Hcy na depressão [GODFREY et al., 1990]. Outro mecanismo potencial para efeito da Hcy nos neurotransmissores vem da ação da SAH, cuja concentração também se eleva na hiper-homocisteinemia (HHCy), por inibição de metil-transferases necessária para catalisar as reações de metilação promovidas por SAM no metabolismo de catecolaminas [ZHU, 2002; RIVETT, ROTH, 1982; KENNEDY et al., 2004].

Deficiências de folato e cobalamina devem também causar prejuízo à conversão de fosfatidiletanolamina em fosfatidilcolina, por uma metil-transferase também dependente de SAM. Como a fosfatidilcolina tem propriedades associadas à regulação da fluidez de membranas e à sinalização celular, a

deficiência daquelas vitaminas deve também afetar a composição, a estrutura e várias propriedades de membrana como a estabilidade e a funcionalidade. A estabilidade da membrana biológica é uma propriedade baseada em sua composição e estrutura. Ela é dependente das proteínas do citoesqueleto e dos grupamentos da cabeça e cauda de seus lipídeos. Alterações na natureza do grupo da cabeça e no tamanho e grau de insaturação de ácidos graxos são fatores importantes na determinação da estabilidade e de outras propriedades de membrana.

De fato, a depressão parece ter uma relação com os níveis de  $\omega$ 3-PUFA ou com a razão  $\omega$ 6/ $\omega$ 3 nos fosfolipídeos totais do plasma. Adams e colaboradores [1996] investigaram as relações existentes entre a severidade da depressão e razões entre ácido araquidônico (AA, um  $\omega$ 6-PUFA) e o ácido eicosapentaenóico (EPA,  $\omega$ 3-PUFA), nos fosfolipídeos do plasma e em fosfolipídeos da membrana de eritrócitos, em 20 pacientes com depressão grave. Eles relataram uma significativa relação positiva entre gravidade da depressão e a razão AA/EPA e uma negativa relação entre os níveis de EPA nos eritrócitos e a depressão. Esses achados podem estar associados a uma cadeia de mecanismos bioquímicos associados a deficiências nutricionais, envelhecimento, transtornos psiquiátricos e alterações hematológicas.

A compreensão desses mecanismos passa pela análise dos efeitos dos PUFA sobre as propriedades da membrana. A abundância de ácido docosahexaenóico (DHA), um ácido graxo da família  $\omega$ 3, nos fosfolipídeos de membrana do SNC é vital para manutenção da integridade e fluidez da membrana [YEHUDA et al., 1998]. Alteração nas concentrações de PUFA nos fosfolipídeos das membranas celulares, como ocorre no envelhecimento e em desordens neuropsiquiátricas, causam mudanças na fluidez que podem afetar as funções de componentes da membrana como enzimas, receptores e canais de íons, provocando mudanças na sinalização celular. É possível que a relação entre a deficiência de  $\omega$ 3-PUFA com a depressão esteja associada a prejuízos no funcionamento de receptores de monoaminas no SNC.

Outro mecanismo possível para justificar a relação entre a deficiência de  $\omega$ 3-PUFA e depressão poderia ser a inflamação. Dois ácidos graxos polinsaturados da família  $\omega$ 3, o ácido docosahexaenóico (DHA) e o ácido

eicosapentaenóico (EPA), parecem diminuir a produção de eicosanóides inflamatórios a partir do ácido araquidônico por dois processos [BOISSONNEAULT, 2000]. Primeiro, eles competem com o ácido araquidônico pela incorporação nos fosfolípidos de membrana, diminuindo os níveis celulares e plasmáticos de ácido araquidônico. Segundo, o EPA compete com ácido araquidônico pelo centro ativo da enzima ciclo-oxigenase, inibindo a produção de eicosanóides derivados do ácido araquidônico (prostaglandinas, leucotrienos e tromboxanos). De fato, a prostaglandina E2 e tromboxano E2 têm sido associados à depressão. Assim, o DHA e o EPA inibem a liberação de citocinas pró-inflamatórias, tais como IL-1  $\beta$ , IL-2, interferon  $\gamma$  e TNF  $\alpha$ , que dependem da liberação de eicosanóides e são também associados com depressão [IKEMOTO et al., 2000].

Um mecanismo mais direto envolveria o controle da expressão gênica pela ligação de ácidos graxos a receptores nucleares específicos. A depleção de DHA e EPA levaria à predisposição tardia ao desenvolvimento de doenças degenerativas como a doença cardíaca, a depressão e a demência [SAMPATH, NTAM, 2004].

Dada a dificuldade em estudar as membranas das células neurais, é necessário buscar alternativas mais simples e disponíveis. O comportamento das membranas biológicas dos eritrócitos reflete, em alguma extensão, processos ocorrendo em outras células pós-mitóticas do organismo. Algumas anormalidades nos eritrócitos relacionadas com doenças devem refletir anormalidades análogas nas células neurais [MELTZER, 1991]. Por essa razão e por causa de sua disponibilidade, a membrana do RBC é frequentemente usada como uma janela de acesso ao sistema nervoso central.

É nesse sentido que esse trabalho investiga a existência de relação na estabilidade de membrana de eritrócitos com depressão em pacientes ambulatoriais idosos, bem como com variáveis que já foram associadas com depressão (estado nutricional geral, variáveis hematológicas e níveis sanguíneos de folato, cobalamina e homocisteína).

## MATERIAL E MÉTODOS

Este trabalho trata de um estudo transversal da relação entre depressão, estado nutricional e parâmetros hematológicos. Ele foi realizado em idosos (sujeitos com idade de 60 anos ou mais) atendidos no ambulatório didático de Geriatria e Gerontologia, de Cardiologia e de Nefrologia do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia (HC-UFU). Os indivíduos que se recusaram a participar do estudo e os que apresentavam limitação cognitiva ou auditiva para responder aos instrumentos foram excluídos.

A execução deste estudo foi previamente aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Universidade Federal de Uberlândia, sob registro número 176/06. Os indivíduos elegíveis que aceitaram participar da pesquisa assinaram termos de consentimento livre e esclarecido.

### **Avaliação do estado nutricional e diagnóstico presumível de depressão**

A avaliação do estado nutricional dos pacientes foi feita pelo instrumento validado chamado de Mini-Avaliação Nutricional (**Mini Nutritional Assessment - MNA**) [GUIGOZ; VELLAS; GARRY, 1994; VELLAS; GARRY, 1996; RUBENSTEIN et al., 200; ALVES DE REZENDE et al., 2005]. O Mini Nutritional Assessment (MNA) é o instrumento utilizado para prover um rápido acesso ao estado nutricional de idosos em clínicas, hospitais e instituições asilares [VELLAS et al., 1999; ALVES DE REZENDE et al., 2005]. O objetivo do MNA é avaliar o risco de desnutrição e, assim, permitir uma intervenção nutricional precoce quando necessária. É um teste composto por medidas simples e questões breves podendo ser completado em menos de 10 minutos: 1) medidas antropométricas (peso, altura e perda de peso); 2) Informações globais (seis questões relacionadas com o estilo de vida, medicamentos e morbidades); 3) questionário dietético (oito questões, relacionadas com o número de refeições, ingestão de alimentos e líquidos, e autonomia de alimentação); 4) informações subjetivas (auto-percepção da saúde e da nutrição). Para a avaliação do estado nutricional, o presente estudo utilizou a quantificação do escore total desse instrumento, considerando os seguintes valores de referência: MNA  $\geq$  24 para estado

nutricional adequado; MNA entre 17 e 23,5 para risco de desnutrição; e MNA < 17 para desnutrição [VELLAS et al., 1999].

A depressão foi rastreada por meio da Escala de Depressão Geriátrica (**Geriatric Depression Scale - GDS**), estabelecida a partir de um questionário inicialmente composto por 30 ítems e posteriormente reduzido a 15 ítems [SHEIKH; YESSAGE, 1986]. A GDS de 15 ítems é mais conveniente para rastreamento de depressão em ambulatórios gerais, já que o tempo necessário para sua aplicação é menor [ALMEIDA; ALMEIDA, 1999; PARADELA; LOURENÇO; VERAS, 2005], sem que haja perda da sensibilidade e especificidade do método [MCGIVNEY et al., 1994]. O ponto de corte para indicação de depressão foi maior que 5 [ALMEIDA; ALMEIDA, 1999; SKEIKH; YESSAVAGE, 1986].

As avaliações usadas na determinação dos escores do GDS e MNA foram executadas por apenas um único pesquisador para evitar erros entre observadores. Os pacientes foram encaminhados ao Laboratório de Análises Clínicas, orientados sobre as restrições para manter o jejum.

### **Coleta das amostras de sangue**

O sangue foi coletado por venopunção (20 mL) em tubos vacuados (Vacuntainer<sup>®</sup>) contendo anticoagulantes específicos para cada dosagem e analisado pelo Laboratório de Análises Clínicas do HC-UFU. Foram determinados parâmetros hematológicos (hemograma completo) e dosagem dos níveis séricos de folato, cobalamina (vitamina B<sub>12</sub>) e homocisteína. Para os exames não realizados neste laboratório, sob a responsabilidade dele, as amostras foram encaminhadas para laboratório de referência, Instituto Hermes Pardini, em Belo Horizonte, respeitando as condições adequadas de conservação das amostras.

### **Dosagens laboratoriais**

A determinação quantitativa *in vitro* da cobalamina em soro e plasma humano foi feita por imunoensaio de eletroquimioluminescência (ECLIA), em um analisador de imunoensaio MODULAR ANALYTICS E170 (módulo “Elecsys vitamin B<sub>12</sub>”) da Roche. O “Elecsys vitamin B<sub>12</sub>” emprega um princípio baseado num teste de competição que usa o fator intrínseco específico da cobalamina. A cobalamina da amostra compete com a cobalamina adicionada (marcada com

biotina) pelos sítios de fixação no complexo de fator intrínseco marcado com ruténio. O analisador calcula automaticamente a concentração do analito (cobalamina) de cada amostra em pg/mL, sendo que o intervalo de normalidade considerado pelo laboratório de análises clínicas do HC-UFU é de 197 a 866 pg/mL.

O método utilizado para determinar a concentração sérica de folato é o doseamento por fixação, o qual é concebido para utilização nos analisadores de imunoensaio MODULAR ANALYTICS E170 (módulo “Elecsys Folate”) da Roche. O teste Elecsys Folate utiliza um princípio de competição e a proteína de fixação natural do folato [Folate Binding Protein (FBP)]. O folato da amostra compete com o folato adicionado marcado com biotina para os locais de fixação no complexo de FBP marcado com ruténio. O analisador calcula automaticamente a concentração do analito de cada amostra em ng/mL, sendo que para esse parâmetro o intervalo de normalidade considerado pelo laboratório do HC-UFU é de 4,2 a 19,9 ng/mL.

A dosagem de homocisteína foi realizada pelo método de Cromatografia Líquida de Alta Performance (HPLC), sendo considerada como referência para indivíduos maiores de 60 anos os valores menores ou igual a 20  $\mu\text{mol/L}$ .

Os parâmetros hematológicos (hemácias, hematócrito, hemoglobina, volume corpuscular médio das hemácias, plaquetas e o perfil leucocitário) foram determinados com a utilização do equipamento Cell-Dyn 3700. Trata-se de um analisador hematológico automatizado onde se coloca a amostra de sangue do paciente para a dosagem de leucócitos e hemácias por diferença de potencial elétrico, utilizando diferentes canais com impedância específica, além de agregar a essa função básica os recursos de citometria de fluxo, citotóxica e citologia diferencial com capacidade de distinguir células imaturas. Os intervalos de normalidade para os parâmetros analisados foram: hemácias [4,3 a 5,7 milhões/ $\text{mm}^3$  (homens) e 4,3 a 5 milhões/ $\text{mm}^3$  (mulheres)]; hemoglobina [13,5 a 17,5 g% (homens) e 12 a 15,5 g% (mulheres)]; hematócrito [39 a 50% (homens) e 35 a 45% (mulheres)], VCM [81 a 95 fL (homens) e 82 a 98 fL (mulheres)]; HCM [26 a 34 pg (ambos os sexos)]; RDW [12 a 15% (ambos os sexos)], leucócitos [3500-10500 mil/ $\text{mm}^3$  (ambos os sexos)]; segmentados [1700 a 8000  $\text{mm}^3$  (ambos os sexos)]; linfócitos [900 a 2900  $\text{mm}^3$  (ambos os sexos)] e plaquetas [150 a 450 mil/ $\text{mm}^3$  (ambos os sexos)].



## Reagentes e equipamentos

As medidas de massa foram feitas em uma balança digital de precisão (AND, Japão). O NaCl utilizado para os experimentos foi adquirido da Synth (São Paulo, Brasil) com grau de pureza de 99,5%, o qual foi devidamente corrigido no preparo das soluções. As determinações de volume foram feitas em buretas de vidro refratário ou pipetas automáticas (Labsystems). As incubações foram feitas em banho termostatizado (Marconi, 115 Piracicaba, Brasil). As leituras de absorvância realizadas em espectrofotômetro de feixe único (Micronal, São Paulo, Brasil).

## Avaliação da estabilidade dos eritrócitos contra choque hipotônico

Em microtubos (Eppendorff®) de 2 mL foram adicionados 1mL de solução de NaCl em concentrações crescentes entre 0 e 1,0 g.dL<sup>-1</sup>. Após pré-incubação durante 10 minutos a 37 °C foram adicionados 20 µL de sangue contendo K<sub>4</sub>EDTA a 1 g.dL<sup>-1</sup>. Após homogeneização e incubação a 37 °C durante 20 minutos, os tubos foram centrifugados a 1.300xg por 10 minutos em temperatura ambiente. Os sobrenadantes, contendo várias concentrações de hemoglobina proveniente da lise de eritrócitos, tiveram sua absorvância de luz avaliada a 540 nm em espectrofotômetro visível (Micronal). Os experimentos foram conduzidos com cada tubo em duplicata. A porcentagem de hemólise em cada tubo foi determinada pelo uso da seguinte equação:

$$\text{Hemólise (\%)} = \frac{A}{A_{\text{máx}}} \times 100\%$$

onde **A** representa valores de absorvância de cada sobrenadante e **A<sub>máx</sub>** representa valor médio máximo de absorvância, obtida a partir da linha de regressão sigmoidal da dependência de **A<sub>540</sub>** contra a concentração de NaCl.

As dependências da porcentagem de hemólise com a concentração de NaCl foram ajustadas a linhas de regressão sigmoidal de acordo com a equação de Boltzmann:

$$\text{Hemólise (\%)} = \frac{A_1 - A_2}{1 + e^{(S - H_{50})/dS}}$$

onde  $A_1$  e  $A_2$  representam as porcentagens máxima e mínima de hemólise,  $S$  é a concentração de cloreto de sódio,  $H_{50}$  é a concentração de NaCl capaz de promover 50% de lise dos eritrócitos e  $dS$  a amplitude da concentração do sal associada à transição da hemólise por choque hipotônico.

### **Métodos estatísticos**

As edições de dados e análises estatísticas foram feitas com o aplicativo OriginPro 8.0 (Microcal Inc., Massachussetz, EUA). As dependências dos valores da idade,  $H_{50}$ , GDS e MNA com os parâmetros hematológicos, folato, cobalamina e homocisteína foram feitas por análise de correlação e regressão linear. As dependências foram consideradas significantes quando os valores de  $p$  foram menores do que 0,05.

## RESULTADOS

Dos 73 pacientes, 52 eram mulheres (71,3%) e 21 homens (28,7%), todos com idade igual ou superior a 60 anos e média de idade de 73,5 anos.

A média de pontuação na escala de depressão geriátrica foi de 4,87. Obtiveram diagnóstico presumível de depressão, com escore acima de 5,0, aproximadamente 35% dos pacientes, dos quais 30% foram do gênero feminino. Nessa amostragem alguns pacientes apresentavam diagnóstico afirmativo para depressão.

A **Tabela 1** apresenta a distribuição dos escores de MNA (estado nutricional) na população total e na estratificação por sexo, com classificação de estado nutrido (MNA > 24), risco de desnutrição (MNA entre 17,5–23,5) e desnutrido (MNA < 17).

A **Tabela 2** apresenta os resultados das análises de correlação entre a idade dos pacientes e as diversas variáveis abordadas nesse estudo. Na análise sem estratificação por sexo observou-se dependência linear significativa ( $p < 0,05$ ) entre idade e escores de MNA (**Figura 2.1**) e dosagens de homocisteína (**Figura 2.2**).

Os escores de GDS apresentaram correlações significantes ( $p < 0,05$ ) com os escores de MNA (**Figura 2.3**) e os níveis sanguíneos de homocisteína (**Figura 2.4**), considerando a população total (ambos os sexos). A correlação significativa com as concentrações de homocisteína foi, entretanto, influenciada por um conjunto de três pontos extremos dentre os 57 pontos experimentais considerados na análise. Censurando-se aqueles três pontos da análise a significância da análise desapareceu.

Com a estratificação por sexo, houve correlação significativa entre os escores de GDS e MNA ( $p=0,0008$ ;  $r=0,1842$ ) somente no gênero feminino, fato que poderia ser explicado pela larga predominância de mulheres sobre os homens (52 mulheres e 21 homens) na população considerada.

A **Tabela 3** representa as correlações das concentrações das vitaminas cobalamina e folato com as variáveis GDS, MNA,  $H_{50}$ , Hcy, VCM e RDW.

A **Figura 2.5** apresenta uma típica curva de fragilidade osmótica de um paciente, demonstrando a linha de regressão sigmoidal que representa a dependência da porcentagem de hemólise com a concentração de NaCl, bem

como a concentração de NaCl capaz de promover 50% de lise dos eritrócitos ( $H_{50}$ ). Em função do decréscimo da concentração de NaCl de 1,0 para 0,1%, uma condição hipotônica, a percentagem de hemólise aumenta até atingir um platô, delimitando uma transição entre dois estados, o intacto (percentagem de hemólise dada por  $A_{\min}$ ) e estado hemolisado (percentagem de hemólise dada por  $A_{\max}$ ). A partir da regressão sigmoideal obteve-se os valores de  $H_{50}$  também representados na figura.

A **Tabela 4** apresenta os resultados das análises de correlação avaliadas entre os valores de  $H_{50}$  e os parâmetros hematológicos e nutricionais. A **Figura 2.7** e a **Figura 2.8** demonstram as dependências dos valores de VCM e RDW com as concentrações de NaCl responsáveis por 50% de hemólise ( $H_{50}$ ), apresentando uma correlação significativamente positiva com VCM ( $p=0,0026$ ) e negativa com RDW ( $p=0,0068$ ).

A **Figura 2.6** apresenta dependência dos valores de  $H_{50}$  com as dosagens plasmáticas de homocisteína, demonstrando uma relação dos níveis aumentados de homocisteína com o aumento da estabilidade da membrana dos eritrócitos. No entanto, as demais variáveis não apresentaram dependência significativa com valores de  $H_{50}$ , considerando ambos os gêneros (**Tabela 4**). Entre as mulheres, os valores de  $H_{50}$  apresentaram correlação significativa com VCM ( $p=0,0065$ ) e RDW ( $p=0,0325$ ), entretanto no gênero masculino uma correlação limítrofe com VCM ( $p=0,06834$ ). As demais variáveis com estratificação de gênero não apresentaram correlações estatísticas com  $p$  menor que 0,05.

**Tabela 1.** Distribuição dos escores de MNA (estado nutricional) na população total e com estratificação por sexo.

<b>Gênero</b>	<b>Desnutrido (<math>\leq 17,0</math>)</b>	<b>Risco de desnutrição (17,5 – 23,5)</b>	<b>Nutrido (<math>\geq 24,0</math>)</b>
Feminino (n=52)	7,7% (4)	38,5% (20)	53,8% (28)
Masculino (n=21)	4,8% (1)	42,9% (9)	52,3% (11)
População total (n=73)	6,9% (5)	39,8% (29)	53,3% (39)

**Tabela 2.** Análise de correlações das diferentes variáveis consideradas com a idade dos voluntários (A= ambos os sexos; F= feminino; M= masculino).

Variáveis	Gênero	r	n	p
GDS	A	-0,0127	73	0,7468
	F	-0,0143	52	0,6004
	M	-0,0228	21	0,4580
MNA	A	+0,0552	73	0,0263*
	F	+0,0371	52	0,0910
	M	+0,2476	21	0,0148*
H <sub>50</sub>	A	+0,0013	73	0,2986
	F	-0,0192	52	0,8489
	M	+0,1093	21	0,0786
FOLATO	A	-0,0028	73	0,3741
	F	-0,0161	52	0,6532
	M	-0,0465	21	0,7434
COBALAMINA	A	+0,0087	73	0,2052
	F	-0,0187	52	0,8065
	M	+0,1493	21	0,0470*
HOMOCISTEÍNA	A	+0,0855	60	0,0133*
	F	+0,0856	41	0,0354*
	M	-0,0539	19	0,6770
HEMÁCIAS	A	-0,0052	73	0,4319
	F	-0,0119	52	0,5131
	M	-0,0348	21	0,5741
HEMATÓCRITO	A	-0,0140	73	0,9431
	F	-0,0169	52	0,6989
	M	-0,0190	21	0,4386
VCM	A	+0,0198	73	0,1211
	F	+0,0397	52	0,0838
	M	-0,0485	21	0,7895
RDW	A	+0,0135	73	0,8398
	F	-0,0100	52	0,4851
	M	-0,0431	21	0,6816

\*Dependência considerada significante quando  $p < 0,05$ .

**Tabela 3.** Análise de correlações entre as variáveis consideradas e as concentrações sanguíneas de folato e cobalamina (A = ambos os sexos; F = feminino; M = masculino).

Parâmetros	Gênero	n	Folato		Cobalamina	
			<i>p</i>	<i>r</i>	<i>p</i>	<i>r</i>
GDS	A	73	0,7654	-0,0131	0,4010	-0,0040
	F	52	0,8824	-0,0195	0,8807	-0,0195
	M	21	0,9204	-0,0549	0,0910	+0,1032
MNA	A	73	0,9512	-0,0144	0,1518	+0,0152
	F	52	0,8169	-0,0192	0,3154	-0,0005
	M	21	0,3681	-0,0078	0,2920	+0,0092
H <sub>50</sub>	A	73	0,4789	-0,0070	0,2739	+0,0029
	F	52	0,6356	-0,0157	0,1674	+0,0185
	M	21	0,5298	-0,0304	0,9022	-0,0517
Hcy	A	60	0,2618	+0,0048	0,0596 <sup>§</sup>	+0,0436
	F	41	0,7404	-0,0233	0,4037	-0,0072
	M	19	0,4425	-0,0241	0,0294*	+0,2304
VCM	A	73	0,2916	+0,0015	0,3269	-0,0003
	F	52	0,1423	+0,0238	0,0100*	+0,1077
	M	21	0,8666	-0,0510	0,4744	-0,0239
RDW	A	73	0,2822	+0,0024	0,3631	+0,0022
	F	52	0,9166	-0,0201	0,1095	+0,0314
	M	21	0,1791	+0,0451	0,7397	-0,0463

\*Correlação estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ ).

§Correlação limítrofe.

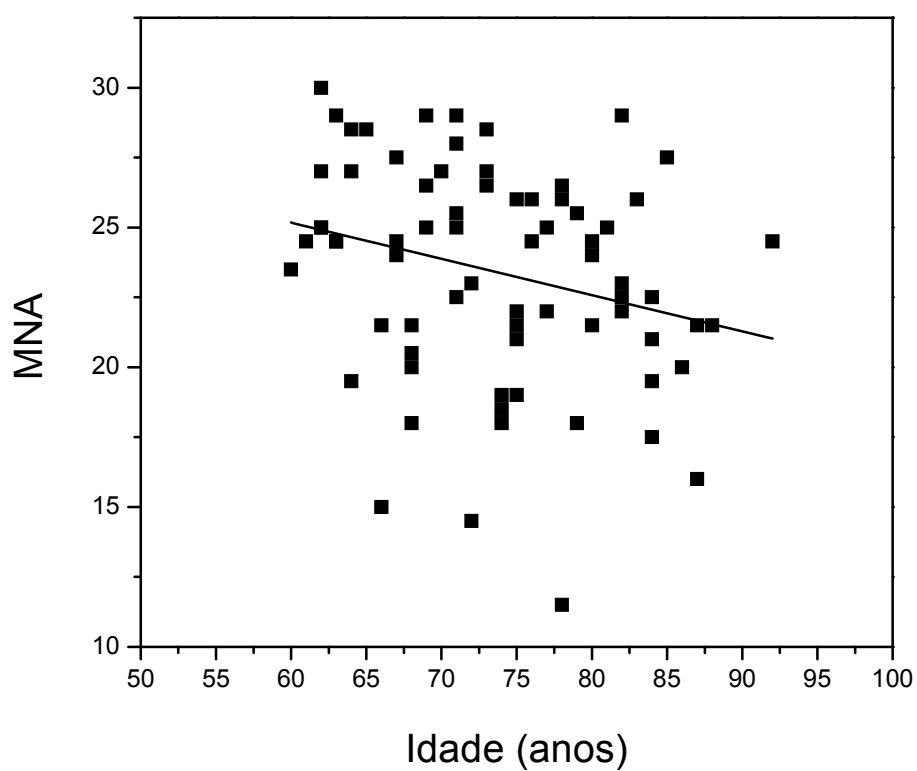
**Tabela 4.** Análise de correlação entre H<sub>50</sub> e variáveis hematológicas, nutricionais e bioquímicas, considerando a população total sem estratificação por sexo\*.

<b>Variáveis</b>	<b>r</b>	<b>p</b>	
GDS (0-15 pontos)	-0,0137	0,8544	
MNA (0-30 pontos)	-0,0007	0,3346	
Folato (pg.mL <sup>-1</sup> )	-0,0070	0,4789	
Cobalamina (ng. mL <sup>-1</sup> )	+0,0029	0,2739	
Homocisteína (μmol. mL <sup>-1</sup> )	+0,0651	0,0275	§
Hemácias milhões/mm <sup>3</sup> )	-0,0127	0,7618	
Hemoglobina	+0,1009	0,0035	§
Hematócrito (%)	+0,0562	0,0243	§
VCM (fL)	+0,1079	0,0026	§
RDW (%)	+0,0858	0,0068	§

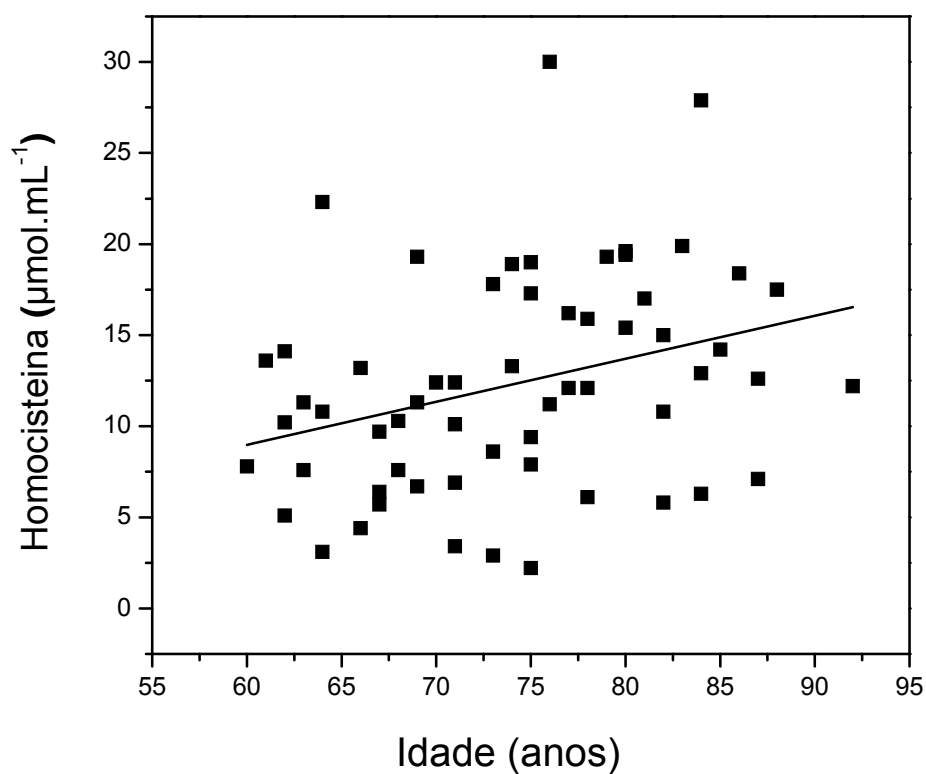
\* n = 73 em todas as correlações, exceto na correlação com os níveis sanguíneos de homocisteína (n = 60).

§ Correlação estatisticamente significativa quando p<0,05.

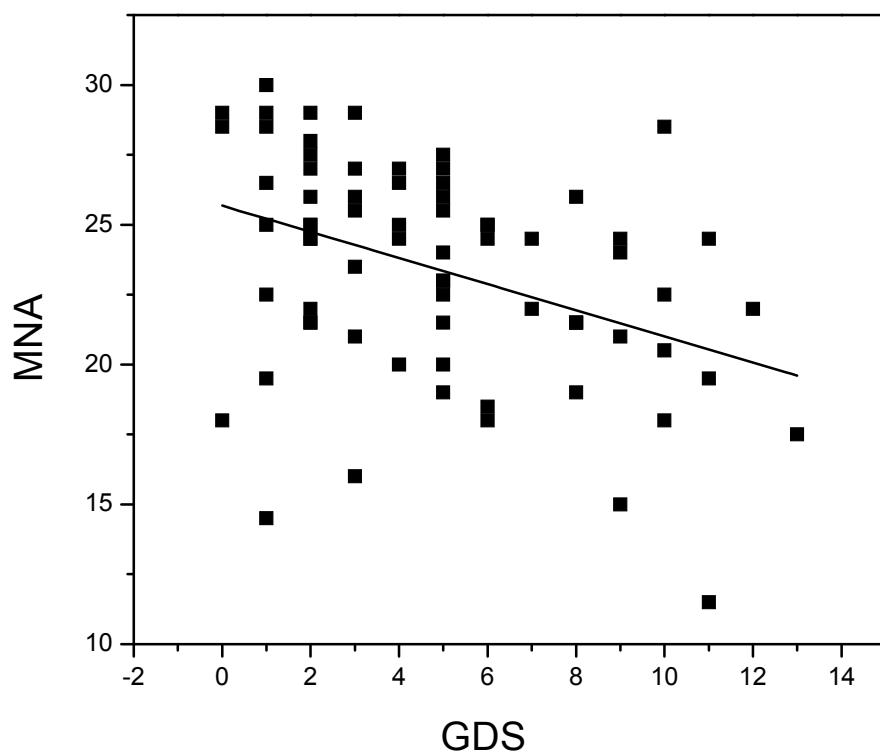




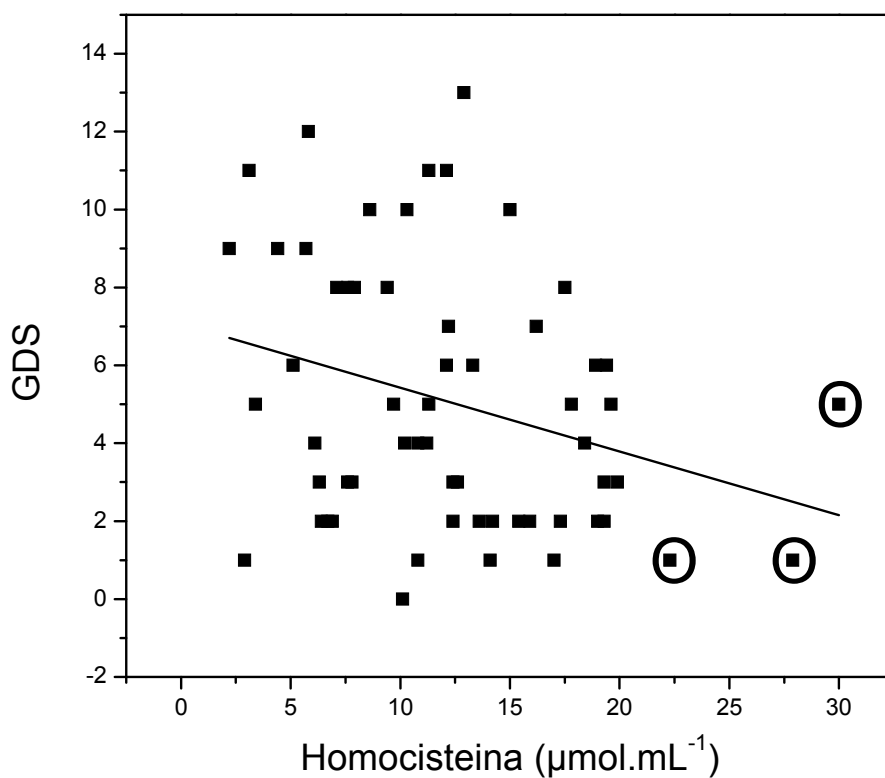
**Figura 2.1.** Dependência dos escores de **MNA** com a **idade** dos pacientes, para a população total sem estratificação por sexo ( $n = 73$ ;  $r = 0,0552$ ;  $p = 0,0263$ ).



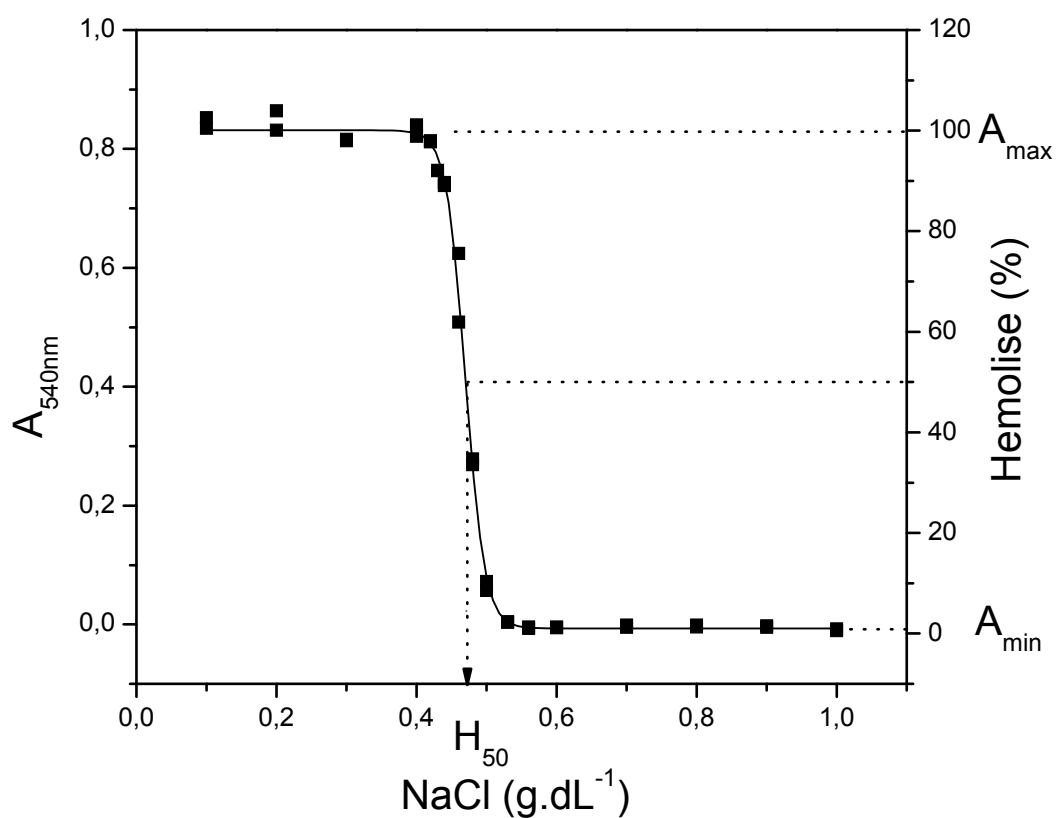
**Figura 2.2.** Dependência das concentrações plasmáticas de homocisteína com a idade dos voluntários, sem estratificação por sexo ( $n = 60$ ;  $r = 0,0855$ ;  $p = 0,0133$ ).



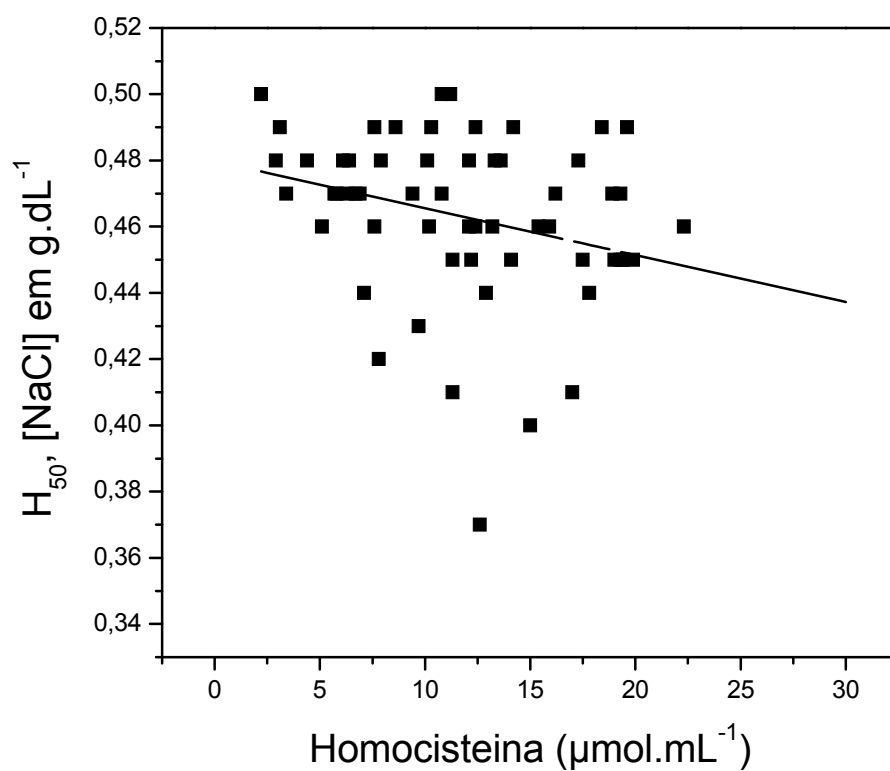
**Figura 2.3.** Relação entre os escores de **MNA** e de **GDS** para a população total sem estratificação por sexo ( $n = 73$ ;  $r = 0,1473$ ;  $p = 0,0005$ ).



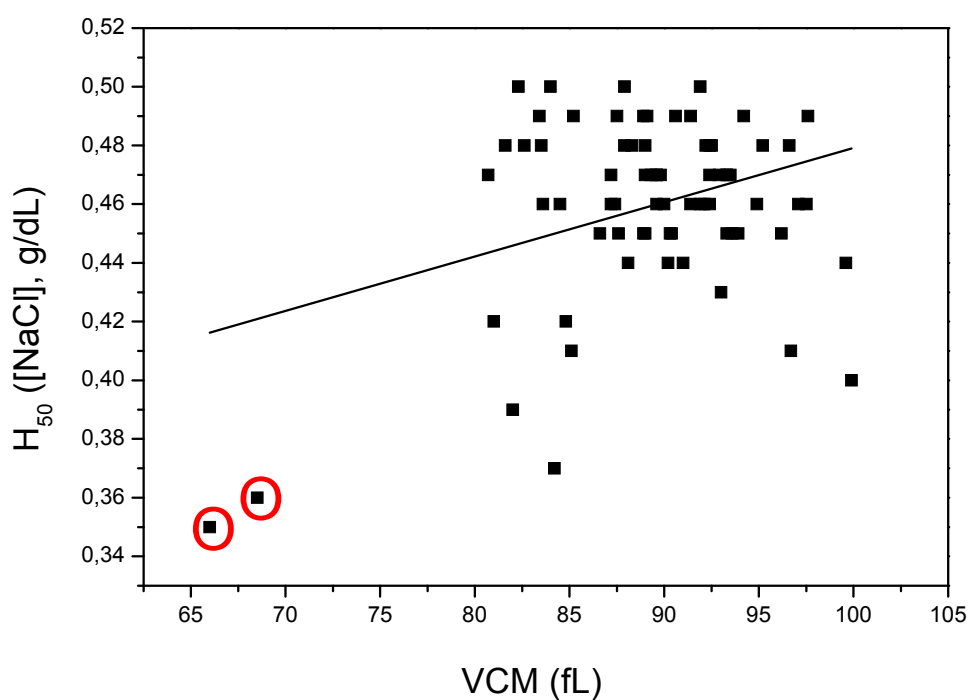
**Figura 2.4.** Dependência dos escores de **GDS** com as concentrações plasmáticas de **homocisteína** para a população total sem estratificação por sexo ( $n=60$ ;  $r=0,0693$ ;  $p=0,0247$ ). Há uma evidente influência de pontos extremos (circundados) na correlação. Censurando-se aqueles pontos da correlação, a significância desaparece ( $n=57$ ;  $r=0,04399$ ;  $p=0,06563$ ).



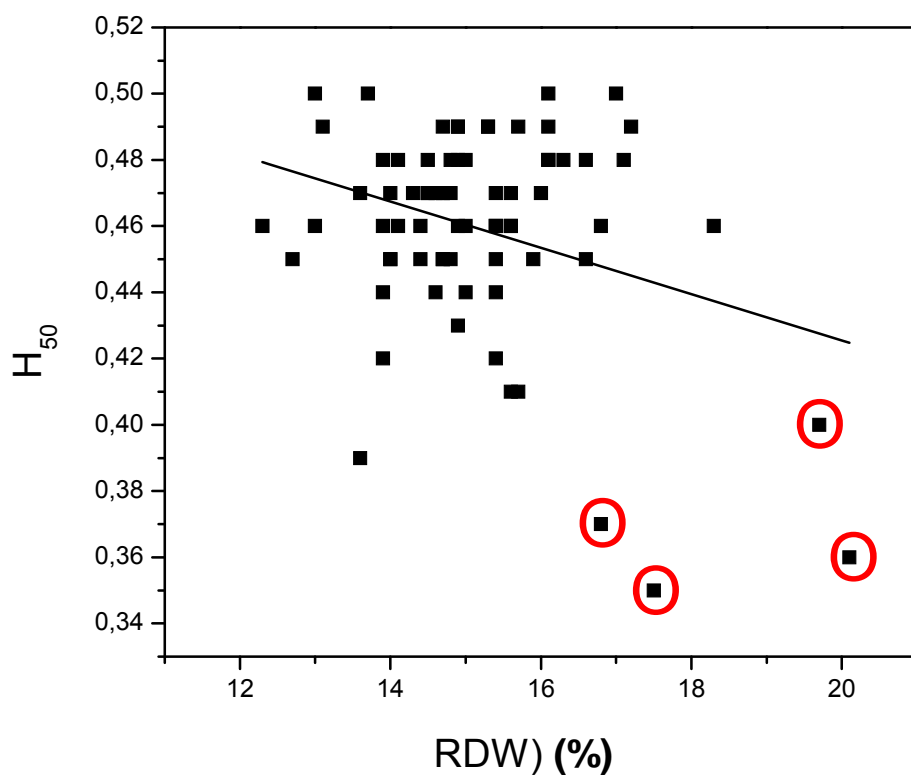
**Figura 2.5.** Curva típica obtida na avaliação da estabilidade de eritrócitos de um paciente contra estresse hipotônico.  $H_{50}$  representa a concentração de NaCl capaz de promover 50% de hemólise.  $A_{max}$  e  $A_{min}$  representam as porcentagens de hemólise nos estados hemolisado e intacto, respectivamente.



**Figura 2.6.** Dependência dos valores de  $H_{50}$  com as concentrações plasmáticas de homocisteína para a população total sem estratificação por sexo ( $n = 60$ ;  $r = 0,0651$ ).



**Figura 2.7.** Dependência de  $H_{50}$  com os valores de **VCM** para a população total, sem estratificação por sexo ( $n = 73$ ;  $r = 0,1079$ ;  $p = 0,0026$ ). A significância da regressão foi dirigida pelos pontos extremos circundados. Censurando-se estes pontos a significância desaparece.



**Figura 2.8.** Dependência de  $H_{50}$  com os valores de **RDW** para a população total, sem estratificação por sexo ( $n=73$ ;  $r=0,0858$ ;  $p=0,0068$ ). A significância da regressão foi dirigida pelos pontos extremos circundados. Censurando-se estes pontos a significância desaparece.



## DISCUSSÃO

### Envelhecimento, nutrição e depressão

Os resultados do presente estudo são concordantes com os indicadores sociais brasileiros quanto à predominância de mulheres sobre os homens na população idosa [DATASUS, IDB, 2006], caracterizando o que foi chamado de feminilização do envelhecimento [CAMARANO, 2002]. A maior longevidade da população feminina poderia ser conseqüente à menor exposição a acidentes de trabalho, de trânsito e homicídios, e pelo menor consumo de álcool e tabaco, mas também por uma diferença de atitude em relação às doenças. As mulheres fazem uso mais constante dos serviços de saúde do que os homens, o que propicia a detecção precoce e o melhor tratamento dessas doenças [VERAS, 2001].

Este trabalho pretendeu buscar possíveis vinculações para epidemiologia da depressão no envelhecimento, sendo que a elevada prevalência de depressão nos idosos é atribuída às interações entre fatores ambientais, sociais e biológicos.

Os fatores ambientais compreendem a inadaptabilidade do ambiente às limitações e perdas associadas ao envelhecimento. Já os fatores sociais englobam a ruptura de vínculos sociais, a perda do espaço ocupacional, a diminuição do rendimento econômico, isolamento e ausência ou ineficácia dos mecanismos de suporte social [STELLA et al., 2002; SNOWDON, 2002; TUESCA-MOLINA, 2003]. A incapacidade decorrente da senilidade é um fator de risco importante a curto e longo prazo para o desenvolvimento da depressão nos idosos. A imobilidade, dor, ansiedade, necessidade de hospitalização e reabilitação intensiva, baixa auto-estima, desmoralização são algumas das alterações que podem precipitar o início da depressão. Os fatores biológicos compreendem a vulnerabilidade genética à depressão, a degeneração estrutural e funcional de órgãos e sistema e as alterações no padrão de alimentação ou de aproveitamento dos fatores nutricionais essenciais ao organismo humano [ARKING, 2006; ALVES DE REZENDE et al., 2005; PENHA-SILVA et al., 2007].

Nesse contexto, é relevante ressaltar que os perfis analisados nesse estudo são de pacientes do Ambulatório do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia, que de certo modo tiveram acesso aos cuidados com a saúde, bem como assistência familiar. Essas condições podem favorecer a

distinção com relação a outros estudos com pacientes idosos institucionalizados ou internados em unidades hospitalares. Por exemplo, nos estudos de Alves de Rezende et al. [2009], Pouget et al. [2000] e Torres et al. [2004] com idosos institucionalizados e usando o mesmo instrumento GDS-15, a prevalência de depressão foi de 60%, 22,4% e 40,5%, respectivamente; nesse trabalho identificamos 35% de idosos com diagnóstico presumível de depressão.

No que se refere ao estado nutricional, avaliado pelo MNA, 6,9% dos pacientes foram considerados desnutridos (4 mulheres e 1 homem), 39,8% apresentaram risco a desnutrição e houve prevalência de indivíduos nutridos (53,3%; n=39), considerando a população total (**Tabela 1**). Essa baixa incidência de desnutrição deve-se ao fato da amostra geral ser compreendida de idosos que vivem em domicílios, com suas famílias, que devem suprir razoavelmente suas necessidades nutricionais. Este quadro se contrasta com a alta prevalência de desnutrição dos idosos institucionalizados residentes na mesma cidade onde foi feito o presente estudo [ALVES DE REZENDE et al., 2005]. Muitos idosos em instituições ingerem dieta deficiente em energia e fibras, apresentando emagrecimento [STILES et al., 1996].

A nutrição é um fator importante na determinação da saúde e da capacidade funcional do indivíduo. O estado nutricional expressa o grau em que as necessidades nutricionais estão sendo atendidas para manter a composição e funções do organismo [JEEJEEBHOY et al., 1990], apresentando um alto impacto no bem estar físico e psicológico, especialmente em idosos.

Nessa amostra da população obteve-se uma dependência significativa e negativa entre os escores de MNA e o aumento da idade (**Figura 2.1**), concordando com estudos que relatam que os idosos apresentam maior tendência em apresentar desnutrição e degeneração de seu estado de saúde [VETTA et al., 1999; SAMPAIO, 2004], seja pela deficiência alimentar [BRIEFEL, WOTECKI, 1992; OLIVIERI et al., 1994; OMRAN, MORLEY, 2000; PIRLICH, LOCHS, 2001] ou pela má absorção, em função da alta frequência de distúrbios gastrintestinais [VETTA et al., 1999]. Também contribuem para a ocorrência de desnutrição em idosos muitos outros fatores, tais como solidão, dentição pobre, diminuição da sensibilidade ao paladar e olfato, disfagia, depressão, abuso de substância, deterioração cognitiva [ARRUDA, ARRUDA, 1994; JACOB FILHO,

[SOUZA, 1994; DEVLIN, 2000], além da coexistência de múltiplas doenças (Parkinson, insuficiências cardíaca congestiva e renal crônica, entre outras) [MCWHIRTER, PENNINGTON, 1994; DEVLIN, 2000]. A desnutrição representa um fator independente de risco de morbidade e mortalidade [BRIEFEL, WOTECKI, 1992].

Um dos aspectos relevantes do trabalho é verificação da existência de relação entre estado nutricional e a depressão.

A dependência negativa e significativa (**Figura 2.3**) observada entre os escores de GDS e MNA para o conjunto de ambos o sexos indica que depressão é inversamente associada com o estado nutricional do paciente. Esse resultado é condizente com estudos de correlação relatados entre depressão e desnutrição [ALVES DE REZENDE et al., 2009, AVILA-FUNES et al., 2006].

Entretanto, o que seria causa e o que seria a consequência nesta relação entre desnutrição e depressão?

Na literatura encontra-se que a depressão está associada à perda de apetite e conseqüentemente à determinação de desnutrição, o que é uma associação seguramente verdadeira. Mas será que a desnutrição não poderia ter algum impacto sobre a depressão. Esse assunto foi revisto e investigado recentemente [ALVES DE REZENDE et al., 2009].

Como deficiências nutricionais seletivas, particularmente de folato e cobalamina têm sido reportadas na população idosa [LERNER et al., 2006; PAPAKOSTAS et al., 2005; TAYLOR et al., 2004], especialmente em portadores de desordens psiquiátricas como depressão e demência [D'ANCI; ROSENBERG, 2004; ROSENBERG, 2001], é possível que essas deficiências sejam causas daqueles transtornos. Há razões metabólicas e degenerativas para isto. Tanto o folato quanto a cobalamina participam na remetilação da Hcy para produção de Met. Como a Met é também a única fonte conhecida de Hcy em nosso organismo, deficiências de folato e/ou de cobalamina são causas conhecidas de hiperhomocisteinemia [BANERJEE; MATTHEWS, 1999; SMITH et al., 2004].

Níveis elevados de Hcy são tóxicos para as células endoteliais [WEISS et al., 2002; AUSTIN et al., 2004] e também para as células neurais [BOTTIGLIERI, 2005; AUSTIN et al., 2004; PARNETTI et al., 1997; KRUMAN ii et al., 2000; DAYAL et al., 2002; MATTSON; SHEA, 2003] e têm sido associados a várias

desordens neuropsiquiátricas, como depressão, esquizofrenia, doença de Alzheimer e doença de Parkinson [BOTTIGLIERI, 2005]. Além dos efeitos tóxicos da homocisteína, a deficiência de folato e/ou cobalamina também limita a produção de SAM, agente metilante que participa nas conversões metabólicas, catalisadas por metil-transferases, de fosfatidiletanolamina, guanidinoacetato, noradrenalina e serotonina em fosfatidilcolina, creatina (e fosfocreatina), adrenalina e melatonina, respectivamente [SMITH et al., 2004]. Esses fatores são determinantes estruturais ou funcionais do humor. A deficiência de fosfatidilcolina nas membranas das células neurais será causa de degeneração estrutural e funcional. A deficiência de fosfocreatina promoverá astenia muscular e cerebral. Um desequilíbrio entre noradrenalina e adrenalina irá exacerbar as respostas simpáticas, causando mudanças autônomas nos batimentos cardíacos. Uma diminuição na produção de melatonina será responsável por distúrbios de sono [ALVES DE REZENDE et al., 2009]. Assim, independentemente da natureza do mecanismo, as deficiências seletivas de folato e/ou de cobalamina podem ser causas de depressão, particularmente no idoso [TIEMEIER et al., 2002].

Considerando que a depressão pode ser ocasionada por deficiência de folato e cobalamina, seria de se esperar que os valores de GDS apresentassem uma correlação significativa com os níveis sanguíneos dessas vitaminas. Entretanto, não houve correlações significantes entre as concentrações sanguíneas dessas vitaminas e os escores de GDS e MNA, nem com as outras variáveis, analisando toda a população junta ou separada por gêneros (**Tabela 3**). Essa ausência de correlações conforme observado no presente trabalho sugere que o quadro depressivo dos nossos voluntários não esteja associado com desnutrição seletiva grave e que o risco de desnutrição apresentada por muitos dos voluntários possa ser consequência do quadro de saúde que os levou a buscar assistência ambulatorial.

Realmente, há controvérsias em relação à associação de sintomas depressivos e os níveis de folato. Eby e colaboradores [1998] notaram que idosos com baixos níveis de folato sérico foram preferencialmente propensos a ser depressivos, e Morris et al. [2003] relataram que membros depressivos da população em geral dos EUA tinham concentrações menores de folato no soro e nas células vermelhas. Entretanto, Penninx et al. [2000] não encontraram

associação entre folato sanguíneo e depressão em mulheres idosas. Lindeman et al. [2000] também não detectaram associação entre folato e depressão na população em geral. Tiemeier e colaboradores [2002] sugeriram que a deficiência de folato não estaria independentemente relacionada a desordens depressivas. Bjeland et al. [2003], num estudo com 5.948 indivíduos, mostraram que baixos níveis de folato plasmático não estão significativamente relacionados a depressão sem desordem de ansiedade em comorbidade na população geral da Noruega. No estudo de Hakkarainen et al. [2004] entre 27.000 homens fumantes, a ingestão de folato (não os níveis de folato no sangue) não foi associada com relatos de sentimentos de depressão, ansiedade ou insônia.

A ocorrência de macrocitose está associada com deficiências de folato e/ou cobalamina, as quais prejudicam a eritropoiese, causando a liberação no sangue de precursores imaturos dos eritrócitos [BENDER; MAYES, 2003]. Assim, o desenvolvimento de um quadro de deficiência de folato e cobalamina, associado ao envelhecimento e/ou à depressão, devem determinar elevações volume das células vermelhas do sangue, o que seria refletido por elevações nos valores de volume corpuscular médio (VCM). Se os escores de GDS dos pacientes fossem decorrentes de deficiências seletivas de folato e/ou cobalamina, correlações negativas de GDS com os níveis daquelas vitaminas seriam esperadas. Entretanto, não houve significância naquelas correlações. Isso por si só não é uma evidência negativa da ausência de dependência entre depressão e deficiências nutricionais seletivas de vitaminas do complexo B, porque as correlações poderiam ter sido mascaradas pela ocorrência combinada de microcitose. A ocorrência de microcitose está associada com deficiências de ferro e /ou proteínas [BENDER; MAYES, 2003]. Assim, o desenvolvimento de um quadro de deficiência de ferro e/ou proteínas, associado ao envelhecimento e/ou à depressão (pelo menos como conseqüência de hiporexia), devem determinar diminuições no volume das células vermelhas do sangue, o que seria refletido por diminuições nos valores de VCM. A existência simultânea de macrocitose e microcitose é conseqüência de deficiência nutricional de folato e/ou cobalamina combinada a deficiência de ferro e/ou proteínas, situação em que o VCM não se alteraria. A variabilidade no tamanho dos eritróctos deve ser então detectada pelos valores de RDW (Red Cell Distribution Width). Se a ocorrência combinada

dessas deficiências fosse a causa da ausência de correlação de GDS com o VCM, seria de se esperar alguma correlação entre os escores de GDS com os valores de RDW, o que efetivamente não ocorreu.

A verificação de associação dos escores de GDS com os níveis plasmáticos de Hcy mostrou a princípio uma paradoxal correlação negativa para a população total sem estratificação por gênero (**Figura 2.4**), o que poderia significar associação de depressão com baixos níveis de Hcy. Entretanto, a significância da correlação é toda determinada por um conjunto de três pontos fora da tendência geral no extremo direito do gráfico, onde os pontos foram circundados a título de identificação. De fato, quando se censura esses pontos na correlação, a significância desaparece.

Outra razão para a correlação paradoxal da **Figura 2.4** é a ausência de extratificação por sexo e idade na análise, dois fatores importantes que afetam a homeostase da Hcy. Homens saudáveis têm níveis plasmáticos de Hcy 21% superiores aos de mulheres. Essa diferença permanece em idosos, embora os níveis de Hcy aumentem na mulher após a menopausa [LUSSIER-CANCAN et al, 1996]. As diferenças entre gêneros nos valores de Hcy devem estar relacionadas com diferenças hormonais. De fato, a diminuição de estrógenos após a menopausa está associada a um aumento nos níveis de Hcy, que diminuem com reposição hormonal. O tamoxifeno (antagonista estrogênico com atividade agonista parcial, usado no tratamento do câncer de mama) diminui em 30% os níveis de Hcy após um ano de uso. Ratos machos tratados com estrógeno diminuem em 30% a concentração de Hcy, enquanto a testosterona não tem efeito sobre a homocisteinemia [FONSECA et al., 1999]. Como uma população feminina considerada neste trabalho foi bem superior à masculina e, além disso, como a média de idade dos homens era inferior à das mulheres, a feminilização da população idosa seria responsável por um declínio nos valores de Hcy.

Além do efeito do gênero, há que se considerar também o efeito do envelhecimento [LUSSIER-CANCAN et al, 1996]. No estudo de Marengoni e colaboradores [2004], com pacientes de 65 anos ou mais que foram admitidos a cuidados intensivos no norte da Itália, 74,2% de homens e 68,9 de mulheres apresentaram concentrações elevadas de Hcy. De fato, os valores de Hcy aumentaram com o aumento da idade em nosso estudo para a população total

sem estratificação por gênero (**Figura 2.2**), apesar do impacto da femilização do envelhecimento, que moveria os valores de Hcy para baixo com o aumento da idade, uma vez que os valores de Hcy são menores nas mulheres do que nos homens [LUSSIER-CANCAN et al, 1996]. Com a estratificação por sexo, observou-se ainda dependência significativa da homocisteína com aumento da idade em mulheres, mas não em homens (**Tabela 2**). Essa diferença na dependência de Hcy com a idade entre mulheres e homens não deve representar uma verdadeira diferença entre os gêneros, mas somente a pequena dimensão da população masculina no estudo.

Altas concentrações de Hcy também estão associadas com aumento de creatinina sérica, baixo escore de “Mini-mental Examination” [MARENGONI et al., 2004], doença coronariana [VON ECKARDSTEIN et al., 1994] e hipotireoidismo [FONSECA et al., 1999].

Uma compreensão mais ampla dos mecanismos determinantes dos fatores que afetam a homocisteinemia deve contribuir para entender as razões pelas quais há contradições em estudos que buscaram estabelecer relações entre a depressão e os níveis sanguíneos de Hcy. Ausência de correlação entre depressão e Hcy foram reportadas em alguns estudos da literatura [FAVA et al., 1997; PENNINX et al., 2000; MORRIS et al., 2003]. Entretanto, Bjelland e colaboradores [2003] observaram um risco aumentado de depressão em indivíduos da população geral com altos níveis plasmáticos de Hcy. Em outro estudo, elevação na Hcy foi associada com depressão, mas esta associação desapareceu após correção para fatores cardiovasculares e incapacidade funcional [TIEMEIER et al., 2002]. Além disso, Bottiglieri e colaboradores [2000] encontraram que altas concentrações de Hcy em pacientes psiquiátricos internados estavam associadas com depressão grave mensurada pela Hamilton Depression Rating Scale [HDRS, HAMILTON, 1960]. Finalmente, em uma triagem, aleatória controlada com placebo, da co-administração de ácido fólico (500 µg/d) com fluoxetina como antidepressivo, o efeito da fluoxetina aumentou no grupo suplementado com folato, e somente entre aqueles cuja Hcy foi relacionada aos escores HDRS após dez semanas de tratamento [COPPEN, BAILEY, 2000]. Então, diminuição satisfatória da Hcy deve ter sido responsável pela melhora nos sintomas depressivos. A heterogeneidade observada na

resposta à ação da fluoxetina combinada com folato sugere que deve haver heterogeneidades intrínsecas nos grupos de indivíduos com depressão, mas seguramente um subgrupo da população deve ter mecanismos determinantes da depressão associados à deficiência de folato e hiper-homocisteinemia.

### **Estabilidade de membrana de eritrócitos**

A variável  $H_{50}$ , considerada neste estudo, representa a concentração de NaCl necessária para promover 50% de lise dos eritrócitos diante de um gradiente decrescente de tonicidade. Ela constitui, portanto, uma estimativa direta da fragilidade osmótica dos eritrócitos ou uma estimativa indireta da estabilidade de eritrócitos contra hipotonicidade. Assim, quanto menores os valores de  $H_{50}$  menos frágeis ou mais estáveis devem ser os eritrócitos contra choque hipotônico.

Os valores de  $H_{50}$  determinados nesse estudo (**Tabela 2.2**) não apresentaram uma dependência significativa com a idade quando foi considerada a população total, sem estratificação por sexo ( $r=+0,0013$ ,  $n=73$ ,  $p=0,2986$ ). Com a estratificação por gêneros, as correlações continuaram ainda sem significância tanto na população masculina ( $r=+0,1093$ ,  $n=21$ ,  $p=0,0786$ ) quanto na população feminina ( $r=-0,0192$ ,  $n=52$ ,  $p=0,8489$ ). Em um estudo anterior, Penha-Silva et al. [2007] mostraram que a estabilidade de membrana de eritrócitos aumentou discretamente com o aumento da idade em uma população exclusivamente feminina constituída por 67 indivíduos com idades entre 20 e 94 anos, onde o critério de exclusão se baseava na presença de doença degenerativa. No presente trabalho a dimensão da população foi menor, a faixa etária foi mais curta (indivíduos com 60 ou mais anos de idade) e a ocorrência de doença degenerativa não foi um critério de exclusão. Seguramente, algum fator presente nesta população foi responsável pelo conflito de resultados. Cabe tentar analisar qual ou quais seriam esses possíveis fatores.

Seguramente, a ausência de correlação no presente estudo sofreu influência da menor dimensão da população e da menor amplitude etária para avaliar um padrão de dependência que foi apenas discreto quando se empregou uma população maior e uma faixa etária mais ampla [PENHA-SILVA et al., 2007].



Fatores ambientais, como pressão [WEBER, BONT, 1996] e temperatura [CUNHA et al., 2007; PENHA-SILVA et al., 2008] não devem ter interferido nos resultados porque foram devidamente controladas em nossos experimentos.

É possível que fatores intrínsecos associados às condições dos sujeitos de nossos experimentos tenham sido responsáveis pela ausência de dependência da estabilidade de membrana com a idade.

Como as propriedades e funções de uma membrana são dependentes do seu grau de fluidez, que é afetada pela sua composição [DELICONSTANTINOS, 1987], mudanças estruturais associadas à condição patológica dos pacientes poderiam afetar a estabilidade de membranas.

A fragilidade osmótica dos eritrócitos depende de sua esfericidade [DELANO, 1995], que é afetada em diferentes tipos de hemoglobinopatias [PARPART et al., 1947; SUESS et al., 1978], bem como em outras doenças. Em face da ausência de correlação entre  $H_{50}$  e VCM (**Figura 2.7**) e entre  $H_{50}$  e RDW (**Figura 2.8**), alterações de volume não parecem ter tido maior impacto, pelo menos isoladamente, no comportamento de eritrócitos.

Como a população deste estudo é constituída por muitos portadores de depressão, condição que já foi vinculada a alterações de membrana, seria importante analisar o impacto da depressão sobre a composição e comportamento de membranas. Anormalidades na composição em ácidos graxos na membrana de eritrócitos têm sido observadas em diversas desordens psiquiátricas, particularmente depressão [MAES et al., 1996; PEET, EDWARDS, 1997; ADAMS et al., 1996; SEKO et al., 1997; EDWARDS et al., 1998; EDWARDS, PEET, 1999; HORROBIN, BENNET, 1999]. Na maioria delas foi encontrado que eritrócitos de indivíduos depressivos têm níveis reduzidos de ácidos graxos polinsaturados  $\omega 3$ . Uma significativa depleção de ácidos graxos insaturados  $\omega 3$  (particularmente DHA) e  $\omega 6$  totais foi observada nas membranas de eritrócitos e plasma de pacientes sem medicação [MAES et al., 1996; PEET, EDWARDS, 1997; ADAMS et al., 1996; SEKO et al., 1997; EDWARDS et al., 1998]. A depleção de  $\omega 3$  foi encontrada exceder a depleção de  $\omega 6$ , levando a elevação nas razões AA/EPA e AA/DHA. A razão AA/EPA em fosfolídeos correlacionou-se positivamente com a severidade de depressão [EDWARDS, PEET, 1999; HORROBIN, BENNET, 1999]. Entretanto, se essas alterações estão

presentes nos sujeitos do presente estudo, elas não foram suficientes para determinar isoladamente um padrão de correlação significativa entre H<sub>50</sub> e GDS tanto com e sem estratificação por gênero (**Tabela 2**).

A depressão tem sido exaustivamente associada à hiper-homocisteinemia. Mas é importante destacar que a homocisteinemia pode estar associada com outros fatores, dos quais pode sofrer influência positiva ou negativa. Embora não seja fácil distinguir entre hiper-homocisteinemias primárias (geneticamente determinadas) e secundárias (ambientalmente adquiridas ou consequentes de condições genéticas não relacionadas com o metabolismo da Hcy), na maioria dos indivíduos idosos ela parece ser um fenômeno secundário sustentado por doença comum (desordens renais) ou fatores exógenos, tais como medicamentos ou deficiências de vitaminas. Na minoria das pessoas, a HHcy pode ser considerada como uma anormalidade primária [VENTURA et al., 2001; HERMAN et al., 1999; BRATTSTROM et al., 1994; SELHUB et al., 1993; JOOSTEN et al., 1993; SORIA et al., 1990]. No estudo de Ventura et al. [2001], com 600 idosos hospitalizados, a prevalência de HHcy estava associada a outras doenças recorrentes tais como diabetes (20%), desnutrição (20,2%), falência renal (48,2%), doença inflamatória intestinal, hiperlipidemia, falência cardíaca (30%), malignidade (20,5%), uso de diuréticos (56%) e de drogas anticonvulsivantes (13%).

A relação com o uso de diuréticos no trabalho de Ventura e colaboradores [2001] chama a atenção. Essa relação já havia sido observada antes [MORROW, GRIMSLEY, 1999]. Uma elevação da homocisteinemia deve ser determinada por drogas que influenciem a secreção tubular e/ou aumentem a absorção tubular da Hcy, mas também por condições patológicas que reduzam sua excreção renal, como a falência renal e a falência cardíaca. A relação da Hcy com o diabetes poderia decorrer de alguma ligação entre a ação da insulina e o metabolismo da Hcy [CRONIN et al., 1998; HOOGEVEN et al., 1998] ou mais simplesmente pela exacerbação da diurese associada ao diabetes não controlado.

Os sujeitos considerados neste trabalho apresentam vários fatores que seriam responsáveis por elevar os níveis de Hcy, tais como idade (**Figura 2.2**) e condições degenerativas. Apesar das dosagens de Hcy ter sido conduzida com apenas uma parte (n = 60) da população considerada (n = 73), o que inviabilizou

estratificação por gênero, os valores de  $H_{50}$  apresentaram uma significativa dependência negativa ( $p=0,02751$ ) com Hcy (**Figura 2.6**). Isto significa que o aumento na concentração sanguínea de Hcy está associado a aumento na estabilidade da membrana de eritrócitos.

### **Racionalidade e possíveis implicações da vinculação da estabilidade de membrana com hiper-homocisteinemia**

Recentes estudos têm demonstrado a importância do balanço metabólico entre SAM, SAH, colina, fosfatidilcolina (PC), fosfatidiletanolamina (PE) no metabolismo da homocisteína, hiperlipoproteinemia, função hepática e doença cardiovascular. A homocisteína e metabolismo lipídico estão interligados parcialmente pelo metabolismo dos grupos metil. Evidências sugerem que uma alteração no mecanismo de doação dos grupos metil afeta o metabolismo dos fosfolípidos, e então a formação e ou secreção das lipoproteínas VLDL [OBEID, HERRMANN, 2009]. Nesse aspecto, uma vez modificada a composição fosfolipídica da membrana, assume-se que a estabilidade da membrana também esteja alterada, tornando-se mais rígida ou fluida.

Interações entre Hcy e a ação da HDL podem ser clinicamente importantes [KEECH et al., 2005], uma vez que esta lipoproteína é responsável pelo transporte reverso do colesterol dos tecidos periféricos para o fígado, retirando colesterol das membranas celulares e esterificando esse colesterol pela ação da lecitina colesterol acil-transferase (LCAT).

Além de ser componente estrutural da membrana celular, a PC é um importante agente na transdução de sinal como uma fonte de mensageiros lipídicos secundários [NG et al., 2004].

No fígado, a PC pode ser sintetizada por duas vias ligadas ao metabolismo do grupo metil. A primeira delas, chamada de via de biossíntese “de novo” de PC, ocorre pela ação da fosfatidil-etanolamina-metiltransferase (PEMT), que promove três metilações dependentes de SAM no grupo amina da PE. A metilação da PE para formação de PC em mamíferos é a principal via de consumo de SAM; a biossíntese “de novo” de PC no fígado é responsável por cerca de 50% dos níveis de Hcy plasmática [NOGA et al., 2003]. Assim, a síntese de PC representa um ponto chave no metabolismo de SAM e fosfolípidos. A segunda via ocorre a

partir da citidina-difosfocolina (CDP-colina), que requer colina obtida tanto da dieta quanto do catabolismo de PC. A CDP-colina e metabolismo da Hcy estão ligados via colina, que é precursor betaína, substância que também funciona como doador de metil para metilação da Hcy pela Hcy betaína-metiltransferase (BHMT) no fígado.

O colesterol e o excesso de gorduras neutras da dieta são transportados como quilomícrons remanescentes ao fígado, onde são incorporados na VLDL para transporte através do sangue para os tecidos. Como a PC é um componente das partículas de VLDL, a produção inadequada de PC pode levar a acúmulo de gordura neutra e de colesterol no fígado. De fato, aumento na biossíntese do colesterol hepático, retenção de triglicerídeos no fígado, diminuição de HDL plasmático e suas proteínas, têm sido associados a HHcy em estudos experimentais [WOO et al., 2005; WERSTUCK et al., 2001; MIKAEL et al., 2006; NAMEKATA et al., 2004; WANG et al., 2003]. Pode-se admitir que a deficiência de doadores de metil deva estar associada com severas mudanças na homeostase lipídica no fígado e provavelmente no sistema vascular. A hipometilação associada com Hcy deve ser responsável pelo acúmulo lipídico nos tecidos. Como o metabolismo de Hcy não é restrito ao fígado, outros tecidos tais como o sistema endotelial devem ser sensíveis a HHcy [CHADWICK et al., 2000].

Como um distúrbio no metabolismo da Hcy resulta na diminuição de SAM ou aumento de SAH, o que afeta a síntese de PC a partir de PE e a homeostase do colesterol, a consequência seria aumento da disponibilidade de colesterol nas membranas celulares. Uma vez que a fluidez de uma membrana diminui com o aumento na concentração de colesterol e na razão entre ácidos graxos saturados e insaturados de seus fosfolípidos [MARR, INGRAHAN, 1962; CRONAN, GELAMAN, 1973; VAN DER MEER, HILKMAN, 1987; MANSILLA et al., 2004], esse tipo de alteração estrutural poderia ser uma causa do comportamento da membrana dos eritrócitos dos pacientes analisados (**Figura 2.6**).

Outra maneira pela qual a Hcy pode alterar a composição e estrutura de membranas é via elevação do estresse oxidativo. O estresse oxidativo é um dos mecanismos pelo qual a Hcy afeta as partículas lipoproteicas e então danifica as células endoteliais [THAMPI et al., 2008]. A Hcy pode intensificar a geração de radical hidroxila e formação de LDL-oxidado [THAMPI et al., 2008], LDL-nitrado

[GRIFFITHS et al., 2006] ou LDL-homocisteinilado [FERRETTI et al., 2004]. As formas modificadas de LDL são mais tóxicas que a LDL nativa e são fagocitados por macrófagos, facilitando a iniciação e progressão da resposta inflamatória nas lesões endoteliais. De fato, suplementação *in vivo* com folato reduziu homocisteína plasmática e protegeu as partículas de VLDL e LDL de serem oxidadas [MCENENY et al., 2007].

Dentre os processos bioquímicos relacionados ao envelhecimento, há o aumento na produção de substâncias oxidantes e diminuição nas defesas antioxidantes [BECKMAN, AMES, 1998]. Os ácidos graxos polinsaturados presentes nos fosfolípidos das membranas biológicas são muito susceptíveis ao ataque de radicais livres (peroxidação de ácidos graxos polinsaturados) [GUTTERIDGE, 1993; WISEMAN, 1996; BECKMAN, AMES, 1998]. A suscetibilidade da membrana do eritrócito ao estresse peroxidativo apresenta uma tendência a aumentar com o ganho de idade, promovendo uma diminuição na proporção de ácidos graxos polinsaturados [WISEMAN, 1996]. A estabilidade de membrana dos eritrócitos deve ser um reflexo da magnitude das forças atrativas de van der Waals entre as cadeias laterais dos fosfolípidos presentes em suas membranas. Essa força se intensifica com o aumento na proporção de colesterol e de ácidos graxos saturados nos fosfolípidos de membrana. Nesse aspecto, o aumento na estabilidade de eritrócitos estaria relacionado com o envelhecimento bem como com os fatores que desencadeariam os processos depressivos, tais como a hiperhomocisteinemia.

Contudo, esse comportamento observado na membrana dos eritrócitos deve refletir o que ocorre com outras membranas celulares. Essa rigidificação de membrana prejudica os processos de transdução de sinais através das membranas, ocasionando prejuízos à inserção de receptores (como os de LDL) e de transportadores (como o GLUT 4), o que resulta no aumento dos níveis de LDL-colesterol e na resistência à ação da insulina. O declínio em mecanismos centrais associados à memória, cognição e controle da ação hormonal também estariam inseridos nesses prejuízos do processo de rigidificação, uma vez que pode alterar a capacidade da membrana em promover mudanças de polaridade associadas à comunicação célula-célula.

Os efeitos da mudança da composição nos fosfolípidos de membrana compreendem abordagens que estão além do processo de rigidificação. Os eicosanóides formados a partir dos ácidos graxos insaturados  $\omega 6$  têm sido associados à exacerbação da inflamação e doenças imunes, enquanto que eicosanóides derivados dos  $\omega 3$  são capazes de modular a inflamação e imunidade associada aos eicosanóides derivados de  $\omega 6$ -PUFA [CALDER, 1996; CALDER 2004a; CALDER 2004b; CALDER, 2005; SCHWAB, SERHAN, 2006]. De fato, indivíduos com altas concentrações de  $\omega 3$ -PUFA nos fosfolípidos de suas células inflamatórias também podem apresentar mudanças na produção de eicosanóides derivados de  $\omega 3$ -PUFA, devido à rigidificação da membrana que limita o acesso da fosfolipase  $A_2$ . A degeneração de origem inflamatória e imune pode ser conseqüente da associação de uma baixa oferta nutricional de  $\omega 3$ -PUFA com uma menor acessibilidade a esses ácidos graxos na membrana biológica das células.

Muitos estudos em ratos indicaram a importância de citocinas pró-inflamatórias IL-6, TNF- $\alpha$  e especialmente IL-1 $\beta$  na comunicação entre ativação imune periférica e o cérebro [BREBNER et al., 2000; DANTZER, 2001; LAYE et al., 2000]. Estudos observacionais têm fornecido evidência que em humanos a ativação endógena do sistema imune provoca uma resposta inflamatória, mensurada pelos elevados níveis séricos de Proteína C Reativa (PCR), IL-6, TNF- $\alpha$  e/ou IL-1 $\beta$  que se associam com sintomas depressivos e depressão maior em várias populações, incluindo idosos [BERK et al., 1997; MAES et al., 1993; PENNIX et al., 2003; SEIDEL et al., 1995; TIEMIER et al., 2003; THOMAS et al., 2003].

Van den Biggelaar e colaboradores [2007], observaram que, em idosos, os processos inflamatórios e ativação de interleucinas, como IL-1 $\beta$ , contribuem para o desenvolvimento de sintomas depressivos, porém sem levar ao declínio cognitivo. Nesse estudo não foi encontrada nenhuma relação entre declínio na função cognitiva sobre o tempo e produção de citocinas pró- e anti-inflamatórias ou níveis circulantes de PCR. De fato, acredita-se que citocinas afetem a função cerebral via neurônios aferentes que ativam resposta cognitiva, ou por liberação local pela microglia ativada, causando neurodegeneração [WILSON et al., 2002].

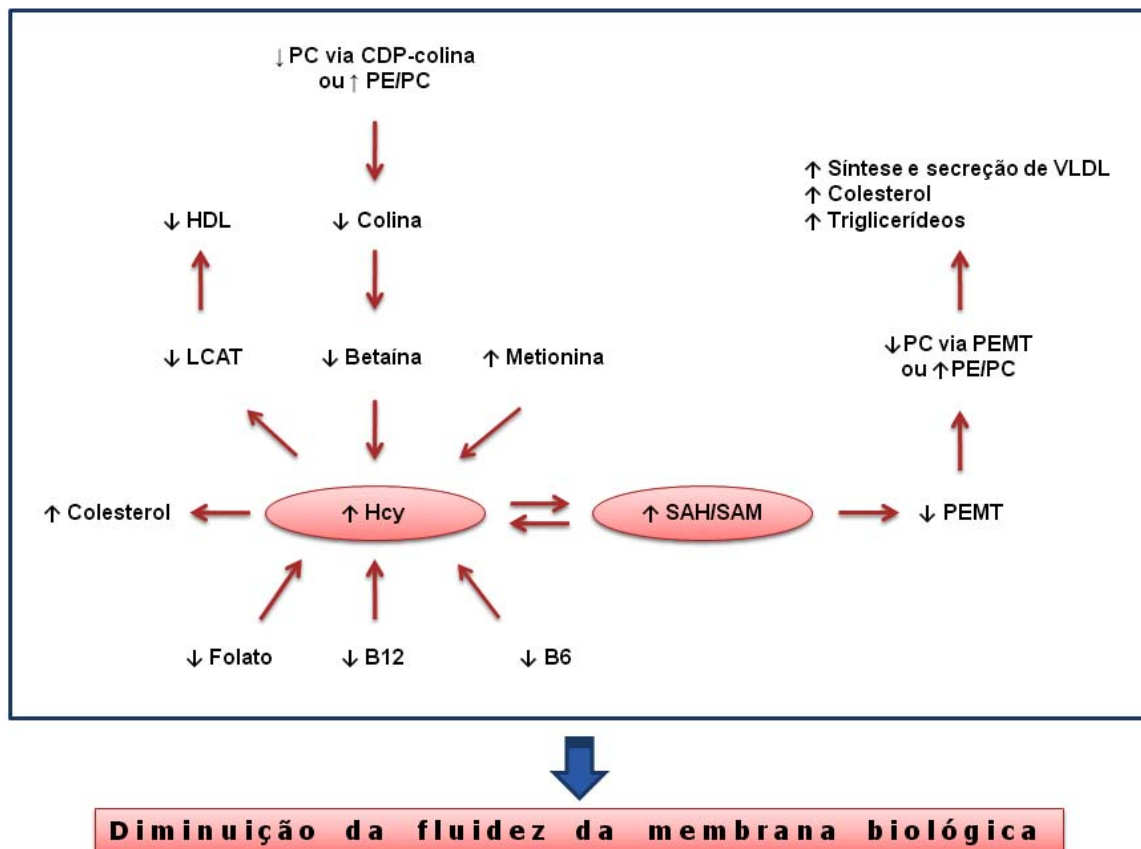
Assim, à luz de relatos da literatura, o vínculo entre o aumento na estabilidade de membrana observada neste trabalho e a elevação na homocisteinemia seria a ocorrência de mudanças na composição lipídica da membrana, com 1) diminuição no teor de PC, 2) retenção de colesterol 3) e lipoperoxidação de PUFA, com aumento na proporção entre ácidos graxos saturados e insaturados. Essas alterações seriam responsáveis por prejuízos aos processos de sinalização e exacerbação de respostas inflamatórias e imunes, vinculadas ao envelhecimento e ao desenvolvimento de desordens degenerativas, tais como diabetes, aterosclerose, câncer, depressão e demência.

## CONCLUSÕES

Na população considerada neste estudo, a estabilidade de membrana de eritrócitos não apresentou relação com a depressão nem com o volume corpuscular médio e os níveis séricos de folato e cobalamina, variáveis associadas com a depressão em idosos. Mas a estabilidade de membrana de eritrócitos aumentou com o aumento dos níveis plasmáticos de homocisteína.

O risco de desnutrição, a prevalência de depressão e as concentrações de homocisteína aumentaram com o aumento da idade.





**Figura 2.9.** Fatores que poderiam contribuir para alteração da estabilidade de membrana.

## REFERÊNCIAS

Adams, P.B.; Lawson, S.; Sanigorski, A.; Sinclair, A.J. Arachidonic acid to eicosapentaenoic acid ratio in blood correlates positively with clinical symptoms of depression. **Lipids**, v.31, S157–161, 1996.

Almeida, O. P.; Almeida, S. A. Confiabilidade da versão brasileira da Escada de Depressão em Geriatria. **Arquivos de Neuropsiquiatria**, v.57 (2-B), p. 421- 426, 1999.

Alves de Rezende, C. H.; Coelho, L. M.; Oliveira, L. M.; Penha-Silva, N. Dependence of the geriatric depression scores on age, nutritional status, and haematologic variables in elderly institutionalized patients. **Journal of Nutrition, Health & Aging**, 2009. (In press).

Alves de Rezende, C. H.; Cunha, M. L.; Alvarenga Júnior, V.; Penha-Silva, N. Dependence of Mini-Nutritional Assessment Scores with Age and Some Hematological Variables in Elderly Institutionalized Patients. **Gerontology**, v.51, p 316-321, 2005.

Arking, A.R. **Biology of aging: observations and principles**. 3ed. Oxford: Oxford University Press, 2006.

Arruda, I.K.G.; Arruda, B.K.G. Nutrição e desenvolvimento. **Cadernos de Saúde Pública** / Ministério da Saúde, Fundação Oswaldo Cruz, Escola Nacional de Saúde Pública, v.10, n.3, p.392-397, 1994.

Austin, R.C.; Lentz, S.R.; Werstuck, G.H. Role of hyperhomocysteinemia in endothelial dysfunction and atherothrombotic disease. **Cell Death & Differentiation**, v.11, p. S56-64, 2004.

Avila-Funes J.A.; Garant, M.P.; Aguilar-Navarro, S. Relationship between determining factors for depressive symptoms and for dietary habits in older adults in Mexico. **Revista Panamericana de Salud Pública**, v.19, p. 321-330, 2006.

Banerjee, R.V.; Matthews, R.G. Cobalamin-dependent methionine synthase. **FASEB Journal** , v.4, p.1450-59, 1990.

Beckman, K.B.; Ames, B.N. The free radical theory of aging matures. **Physiological Reviews**, v.78, p.547-581, 1998.

Bell, I.; Edman, J.S.; Morrow, F.D.; Marby, D.W.; Mirages, S.; Perrone, G.; Kayne, H.L.; Cole, J.O. B complex vitamin patterns in geriatric and Young adult inpatients with major depression. **Journal of the American Geriatrics Society**, v.39, p.252-257, 1991.

Berk, M.; Wadee, A.A.; Kuschke, R.H.; O'Neill-Kerr, A. Acute phase proteins in major depression. **Journal of Psychosomatic Research**, v.43, p.529–534, 1997.

Bjelland, I.; Tell, G.S.; Vollset, S.E.; Refsum, H.; Ueland, P.M. Folate, vitamin B12, homocysteine and the MTHFR 677C T polymorphism in anxiety and depression: The Hordaland Homocysteine Study. **Archives of General Psychiatry**, v.60, p.618-626, 2003.

Boissonneault, G.A. Dietary fat, immunity, and inflammatory disease. In: **Fatty Acids in Foods and Their Health Implications**. Edited by Chow CK. New York: Marcel Dekker, 2000.

Bottiglieri T. Homocysteine and folate metabolism in depression. **Progress in Neuro-Psychopharmacology e Biological Psychiatry**, v.49, p.1103-1112, 2005.

Bottiglieri, T.; Crellin, R.F.; Reynolds, E.H. Folate in neuropsychiatry. In: Baley, L.B. **Folate in health and disease**. New York:Marcel Dekker Inc., 1995.

Bottiglieri, T.; Hyland, K. S-adenosylmethionine levels in psychiatric and neurological disorders: a review. **Acta neurologica Scandinavica**, v.89, p.19-26, 1994.

Bottiglieri, T.; Hyland, K.; Reynolds, E.H. The clinical potential of ademetionine (S-adenosylmethionine) in neurological disorders. **Drugs**, v.48, p.137-152, 1994.

Bottiglieri, T.; Laundry, M.; Crellin, R.; Toone, B.K.; Carney, M.W.P; Reynolds, E.H. Homocysteine, folate, methylation and monoamine metabolism in depression. **Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry**, v.69, p.228-232, 2000.

Brattström, L.; Lindgren, A.; Israelsson, B.; Andersson, A.; Hultberg, B. Homocysteine and cysteine: Determinants of plasma levels in middle aged and elderly subjects. **Journal of Internal Medicine**, v.236, p.633-641, 1994.

Brebner, K.; Hayley, S.; Zacharko, R., Merali, Z.; Anisman, H. Synergistic effects of interleukin-1beta, interleukin-6, and tumor necrosis factor-alpha: central monoamine, corticosterone, and behavioral variations. **Neuropsychopharmacology**, v. 22, p.566-580, 2000.

Bressa, G.M. S-adenosylmethionine (SAME) as antidepressant: meta-analysis of clinical studies. **Acta Neurologica Scandinavica**, v.154, p.7-14, 1994.

Briefel, R.R.; Woteki, C.E. Development of the food sufficiency questions for the third National Health and Nutrition Examination Survey. **Journal of Nutrition Education**, v.24, p.24-28, 1992.

Calder, P.C. Effects of fatty acids and dietary lipids of the immune system. **The Proceedings of the nutrition society**, v.55, p.127-150, 1996.

Calder, P.C. Long-chain n-3 fatty acids and cardiovascular disease: further evidence and insights. **Nutrition Research**, v.24, n.10, p.761-772, 2004a.

Calder, P.C. n-3 fatty acids and cardiovascular disease: evidence explained and mechanisms explored. **Clinical Science**, v.107, n.1, p.1-11, 2004b.

Calder, P.C. Polyunsaturated fatty acids and inflammation. **Biochemical Society Transactions**, v.33, n.2, p.423-427, 2005.

Camarano, A. A. Envelhecimento da População Brasileira: Uma contribuição demográfica. In: Viana de Freitas, E.; Py, L. Neri, A. L. Cançado, F. A. X.; Gorzoni, M.L.; Maria da Rocha, S. **Tratado de Geriatria e Gerontologia**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002, 58 – 61p.

Cecil, R. L. Seqüelas clínicas comuns do envelhecimento. In\_ Cecil, R. L. **Tratado de Medicina Interna**. 22ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2004, 120-127p.

Chadwick, L.H.; McCandless, S.E.; Silverman, G.L.; Schwartz, S.; Westaway, D.; Nadeau, J.H. Betaine–homocysteine methyltransferase-2: cDNA cloning, gene sequence, physical mapping, and expression of the human and mouse genes. **Genomics** v.70, p.66–73, 2000.

Clarke, R.; Refsum, H.; Birks, J.; Evans, J.G.; Johnston, C.; Sherliker, P.; Ueland, P.M.; Schneede, J.; McPartlin, J.; Nexo, E.; Scott, J.M. Screening for vitamin B12 and folate deficiency in older persons. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.77, p.1241-1247, 2003.

Coppen, A.; Bailey, J. Enhancement of the antidepressant action of fluoxetine by folic acid: a randomised, placebo controlled trial. **Journal of Affective Disorders**, v.60, p.121-130, 2000.

Cronan, J.E.; Gelmann, E.P. An estimate of the minimum amount of unsaturated fatty acid required for growth of *E. coli*. **The Journal of Biological Chemistry**, v.248, p.1188-1195, 1973.

Cronin, C.C., McPartlin, J.M.; Barry, D.G.; Ferriss, J.B.; Scott, J.M.; Weir, D.G. Plasma homocysteine concentrations in patients with type 1 diabetes. **Diabetes Care**, v.21, p.1843-1847, 1998.

Cunha, C.C.; Arvelos, L.R.; Costa, J.O.; Penha-Silva, N. Effects of glycerol on the thermal dependence of the stability of human erythrocytes. **Journal of Bioenergetics and Biomembranes**, v.39, p.341-347, 2007.

D'Ancl, K. E.; Rosenberg, I. H. Folate and brain function in the elderly. **Current Opinion en Clinical Nutrition and Metabolic Care**, v. 7, p. 659-664, 2004.

Dantzer, R. Cytokine-induced sickness behavior: mechanisms and implications. **Annals of New York Academy of Sciences**. v.933, p.222–234, 2001.

Dayal, S.; Brown, K.L.; Weydert, C.J.; Oberley, L.W.; Arning, E.; Bottiglieri, T.; Faraci, F.M.; Lentz, S.R. Deficiency of glutathione peroxidase-1 sensitizes hyperhomocysteinemic mice to endothelial dysfunction. **Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology**, v.22, p.1996-2002, 2002.

Deliconstantinos, G. Physiological aspects of membrane lipid fluidity in malignancy. **Anticancer Research**, v.7, p.1011-1021, 1987.

Devlin, M. The nutritional needs of the older person. **Professional Nurse**, v.1, p.950-955, 2000.

Ebly, E.M.; Schaefer, J.P.; Campbell, N.R.; Hogan, D.B. Folate status, vascular disease and cognition in elderly Canadians. **Age Ageing**, v.27, p.485-491, 1998.

Edwards, R.W.; Peet, M.; Shay, J.; Horrobin, D. Omega-3 polyunsaturated fatty acid levels in the diet and red blood cell membranes of depressed patients. **Journal Affective Disorders**, v.48, p.149-55, 1998.

Edwards, R.W.; Peet, M. Essential fatty acids in relation to depression. In: Peet, M.; Glen, I.; Horrobin, D.F., eds. **Phospholipid spectrum disorder in psychiatry**. Cornforth, England: Marius, p.211-24, 1999.

Fava, M.; Borus, J.S.; Alpert, J.E.; Nierenberg, A.A.; Rosenbaum, J.F.; Bottiglieri, T. Folate vitamin B12 and tHcy in major depressive disorder. **American Journal of Psychiatry**, v.154, p.426-428, 1997.

Ferretti, G.; Bacchetti, T.; Moroni, C.; Vignini, A.; Nanetti, L.; Curatola, G. Effect of homocysteinylated low density lipoproteins on lipid peroxidation of human endothelial cells. **Journal of Cellular Biochemistry**, v.92, p.351-360, 2004.

Fonseca, V.; Guba, S. C.; Fink, L. M. Hyperhomocysteinemia and endocrine system: implications for atherosclerosis and thrombosis. **Endocrine Reviews**, v. 20, n. 5, p. 738-59, 1999.

Godfrey, P.S.; Toone, B.K.; Carney, M.W.; Flynn, T.G.; Bottiglieri, T.; Laundry, M.; Chanarin, I.; Reynolds, E.H. Enhancement of recovery from psychiatric illness by methylfolate. **Lancet**, v.336, p.392-395, 1990.

Griffiths, H.R.; Aldred, S.; Dale, C.; Nakano, E.; Kitas, G.D.; Grant, M.G.; Nugent, D.; Taiwo, F.A.; Li, L.; Powers, H.J. Homocysteine from endothelial cells promotes LDL nitration and scavenger receptor uptake. **Free Radical Biology and Medicine**, v.40, p.488-500, 2006.

Guigoz, Y.; Vellas, B.; Garry, P.J. Mini Nutritional Assessment: A practical assessment tool for grading the nutritional state of elderly patients. **Facts Res Gerontology**, v.15, 1994.

Guttridge, J.M.C. Free radicals in disease process: a compilation of causes and consequences. **Free Radical Research Communications**, v.19, p.141-150, 1993.

Hakkarainen, R.; Partonen, T.; Haukka, J.; Virtano, J.; Albanes, D.; Lonnqvist, J. Food and nutrient intake in relation to mental wellbeing. **Nutrition Journal**, v.3, 2004.

Herrmann, W.; Quast, S.; Ullrich, M.; Schultze, H.; Bodis, M.; Geisel, J. Hyperhomocysteinemia in high-aged subjects: Relation of B-vitamins, folic acid, renal function and the methylene tetrahydrofolate reductase mutation. **Atherosclerosis**, v.144, p.91-101, 1999.

Hoogeveen, E.K.; Kostense, P.J.; Beks, P.J.; Mackaay, A.J.; Jakobs, C.; Bouter, L.M.; Heine, R.J.; Stehouwer, C.D. Hyperhomocysteinemia is associated with an increased risk of cardiovascular disease, especially in non-insulin-dependent diabetes mellitus: A populationbased study. **Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology**, v18, p.133-138, 1998.

Horrobin, D.F.; Bennet, C.N. Depression and bipolar disorder: relationships to impaired fatty acid phospholipid metabolism and to diabetes, cardiovascular disease, immunological abnormalities, cancer, ageing and osteoporosis. **Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids** v.60, p.217-34, 1999.

Ikemoto, A.; Nitta, A.; Furukawa, S.; Ohishi, M.; Nakamura, A.; Fujii, Y.; Okuyama, H. Dietary omega 3 fatty acid deficiency decreases nerve growth factor content in rat hippocampus. **Neuroscience Letters**, v. 285, p.99-102. 2000;

Jacob Filho, W.; Souza, R.R. Anatomia e fisiologia do envelhecimento. In: Carvalho Filho, E.T.; Papaléo Netto, M. **Geriatrics: fundamentos, clínica e terapêutica**. São Paulo: Atheneu, 1994.

Jeejeebhoy, K.N.; Detsky, A.S.; Baker, J.P. Assessment of nutritional status. **JPEN. Journal of Parenteral and Enteral Nutrition**, v.14, n.5, p.193S-196S, 1998.

Joosten, E.; Pelemans, W.; Devos, P.; Lesaffre, E.; Goossens, W.; Criel, A.; Verhaeghe, R. Cobalamin absorption and serum homocysteine and methylmalonic acid in elderly subjects with low serum cobalamin. **European Journal of Haematology**, v.51, p.25-30, 1993.

Kasapoglu, M.; Ozben, T. Alterations of antioxidant enzymes responses and oxidative stress markers in aging. **Experimental Gerontology**, v.36, p.209-220, 2001.

Keech, A.; Simes, R.J.; Barter, P.; Best, J.; Scott, R.; Taskinen, M.R.; Forder, P.; Pillai, A.; Davis, T.; Glasziou, P.; Drury, P.; Kesaniemi, Y.A.; Sullivan, D.; Hunt, D.; Colman, P.; d'Emden, M.; Whiting, M.; Ehnholm, C.; Laakso, M. Effects of long-term fenofibrate therapy on cardiovascular events in 9795 people with type 2 diabetes mellitus (the FIELD study): randomised controlled trial. **Lancet**, v. 366, p.1849-1861, 2005.

Kennedy, B.P.; Bottiglieri, T.; Arning, E.; Ziegler, M.G.; Hansen, L.A.; Masliah, E. Elevated S-adenosylhomocysteine in Alzheimer brain: influence on methyltransferases and cognitive function. **Journal Neural Transmission**, v.111, n.4, p.547-567, 2004.

Kloor, D.; Osswald, H. S-adenosylhomocysteine hydrolase as a target for intracellular adenosine action. **Trends Pharmacology Science**, v.25, p.294-297, 2004.

Kruman, I.I.; Culmsee, C.; Chan, S.L.; Kruman, Y.; Guo, Z.; Penix, L.; Mattson, M.P. Homocysteine elicits a DNA damage response in neurons that promotes

apoptosis and hypersensitivity to excitotoxicity. **Journal of Neuroscience**, v.20, n.18, p.6920–6926, 2000.

Laye, S.; Gheusi, G.; Cremona, S.; Combe, C.; Kelley, K.; Dantzer, R.; Parnet, P. Endogenous brain IL-1 mediates LPS-induced anorexia and hypothalamic cytokine expression. **American Journal of Physiology - Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v.279, p.R93–R98, 2000.

Lerner, V.; Kanevsky, M.; Dwolatzky, T.; Rouach, T.; Kamin, R.; Miodownik, C. Vitamin B12 and folate serum levels in newly admitted psychiatric patients. **Clinical Nutrition**, v. 25, p. 60-67, 2006.

Lindeman, S.; Hamalainen, J.; Isometsa, E.; Kaprio, J.; Poikolainen, K.; Heikkinen, M.; Aro, H. The 12-month prevalence and risk factors for major depressive episode in Finland: representative sample of 5993 adults. **Acta Psychiatry Scandinavica**, v.102, p.178-184, 2000.

Lussier-Cancan, S.; Xhignesse, M; Piolot, A.; Selhub, J.; Davignon, J.; Genest, J. Jr. Plasma total homocysteine in health subjects: sex-specific relation with biological trials. **American Journal of Clinical Nutrition**, n. 64, p. 587-93, 1996.

Maes, M.; Bosmans, E.; Meltzer, H.Y.; Scharpe, S.; Suy, E. Interleukin-1b: a putative mediator of HPA axis hyperactivity in major depression? **American Journal of Psychiatry**, v.150, p.1189–1193, 1993.

Maes, M.; Smith, R.; Christophe, A.; Cosyns, P.; Desnyder, R.; Meltzer, H. Fatty acid composition in major depression: decreased  $\omega$ 3-fractions in cholesterol esters and increased C20:4 $\omega$ 6/C20:5 $\omega$ 3 ratio in cholesterol esters and phospholipids. **Journal of Affective Disorders**, v.38, p.35–46, 1996.

Mansilla, M.C.; Cybulski, L.E.; Albanesi, D.; De Mendoza, D. Control of membrane lipid fluidity by molecular thermosensors. **Journal of Bacteriology**, v.186, n.20, p.6681-6688, 2004.

Marengoni, A.; Cossi, S.; De Martinis, M.; Calabrese, P.A.; Orini, S.; Grassi, V. Homocysteine and disability in hospitalized geriatric patients. **Metabolism**, v.53, p.1016–1020, 2004.

Marr, A.G.; Ingrahan, J.I. Effect of temperature on the composition of fatty acid in *Escherichia coli*. **Journal of Bacteriology**, v.84, p.1260-1267, 1962.

Mattson, M.P.; Shea, T.B. Folate and homocysteine metabolism in neural plasticity and neurodegenerative disorders. **Trends Neuroscience** v.26, p.137-46, 2003.

McEneny, J., Couston, C., McKibben, B., Young, I.S. and Woodside, J.V. Folate: in vitro and in vivo effects on VLDL and LDL oxidation. **International journal for vitamin and nutrition research**, v.77, p.66–72, 2007.

McGivney, S.A.; Mulvihill, M.M.; Taylor, B. Validating the GDS depression screen in the nursing home. **Journal American Geriatric Society**, v.42, p.490-492, 1994.

McWhirter, J.P.; Pennington, C.R. Incidence and recognition of malnutrition in hospital. **British Medical Journal**, v.308, p.945-948, 1994.

Meltzer, H.L. Is there a specific membrane defect in bipolar disorders? **Biological Psychiatry**, v.30, p.1071-1074, 1991.

Mikael, L.G., Genest, Jr.; Rozen, R. Elevated homocysteine reduces apolipoprotein A-I expression in hyperhomocysteinemic mice and in males with coronary artery disease. **Circulation Research**, v.98, p.564-571, 2006.

Morley, J. E. Anorexia in older persons: epidemiology and optimal treatment. **Drugs Aging**, v. 8, p. 134-155, 1996.

Morris, S.M.; Fava, M.; Jacques, P.F.; Selhub, J.; Rosenberg, I.W. Depression and folate status in the US population. **Psychotherapy and Psychosomatics**, v.72, p.80-87, 2003.

Morrow, L.E.; Grimsley, E.W. Long-term diuretic therapy in hypertensive patients: Effects on serum homocysteine, vitamin B6, vitamin B12, and red blood cell folate concentrations. **Southern Medical Journal**, v.92, p.866-870, 1999.

Namekata, K.; Enokido, Y.; Ishii, I.; Nagai, Y.; Harada, T.; Kimura, H. Abnormal lipid metabolism in cystathionine beta-synthase-deficient mice, an animal model for hyperhomocysteinemia. **Journal of Biological Chemistry**, v.279, p.52961-52969, 2004.

Ng, M.N.; Kitos, T.E.; Cornell, R.B. Contribution of lipid second messengers to the regulation of phosphatidylcholine synthesis during cell cycle re-entry. **Biochemistry and Biophysical Acta**, v.1686, p.85-99, 2004.

Noga, A.A.; Stead, L.M.; Zhao, Y.; Brosnan, M.E.; Brosnan, J.T.; Vance, D.E. Plasma homocysteine is regulated by phospholipid methylation. **Journal of Biological Chemistry**, v.278, p.5952-5955, 2003.

Obeid, R.; Herrmann, W. Homocysteine and lipids: S-Adenosyl methionine as a key intermediate. **FEBS Letters**, v. 583, p.1215-122, 2009.

Olivieri, O.; Stanzial, A.M.; Girelli, D.; Trevisan, M.T.; Guarini, P.; Terzi, M.; Caffi, S.; Fontana, F.; Casaril, M.; Ferrari, S.; Corrocher, R. Selenium status, fatty acids, vitamins A and E, and aging. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v.60, p.510-517, 1994.

Omran, M.L.; Morley, J.E. Assessment of protein energy malnutrition in older persons, part I: History, examination, body composition and screening tools. **Nutrition**, v.16, p.50-63, 2000.

Papakostas, G. I.; Petersen, T.; Lebowitz, B.D.; Mischoulon, D.; Ryan, J.L.; Nierenberg, A.A.; Bottiglieri, T.; Alpert, J.E.; Rosenbaum, J.F.; Fava, M. The relationship between serum folate, vitamin B12, and homocysteine levels in major depressive disorder and timing of improvement with fluoxetine. **International Journal of Neuropsychopharmacology**, v. 8, p. 1-6. 2005.



Paradela, E. M. P.; Lourenço, R. A.; Veras, R. P. Validação da escala de depressão geriátrica em um ambulatório geral. **Revista Saúde Pública**, v. 39 (3), p. 918-923, 2005.

Parnetti, L.; Bottiglieri, T.; Lowenthal, D. Role of tHcy in aged-related vascular and non-vascular diseases. **Aging Clinical and Experimental Research**, v.9, p.241-257, 1997.

Parpart, A.K.; Lorenz, P.B.; Parpart, E.R The osmotic resistance (fragility) of human red cells. **Journal of Clinical Investigation**, v.26, n.4, p.636-640, 1947.

Peet, M.; Edwards, R.W. Lipids, depression and physical diseases. **Current Opinion of Psychiatry**, v.10, p.477-80, 1997.

Penha-Silva, N.; Arvelos, L.R.; Cunha, C.C.; Aversi-Ferreira, T.A.; Gouvêa-E-Silva, L.F.; Garrote-Filho, M.S.; Finotti, C.J.; Bernardino-Neto, M.; De Freitas Reis, F.G. Effects of glycerol and sorbitol on the thermal dependence of the lysis of human erythrocytes by ethanol. **Bioelectrochemistry**, v.73, p.23-29, 2008.

Penha-Silva, N.; Firmino, C.B.; De Freitas Reis, F.G.; Da Costa Huss, J. C.; De Souza, T. M. T.; De Freitas, M. V.; Netto, R. C. M. Influence of age on the stability of human erythrocyte membranes. **Mechanisms of ageing and development**, v. 128, p. 444-449, 2007.

Penninx, B.; Guralnik, J.M.; Ferruci, L.; Fried, L.P.; Allen, R.H.; Stabler, S.P. Vitamin B12 deficiency and depression in physically disabled older women: epidemiologic evidence from the Women's Health and Aging Study. **American Journal of Psychiatry**, v.157, p.715-721, 2000.

Penninx, B.W.; Kritchevsky, S.B.; Yaffe, K.; Newman, A.B.; Simonsick, E.M.; Rubin, S.; Ferrucci, L.; Harris, T.; Pahor, M. Inflammatory markers and depressed mood in older persons: results from the Health, Aging and Body Composition study. **Biological Psychiatry**, v.54, p.566-572, 2003.

Pirlich, M.; Lochs, H. Nutrition in the elderly. **Best Practice & Research Clinical Gastroenterology**, v.15, p. 869-884, 2001.

Pouget, R.; Yersin, B.; Wietlisbach, V.; Bumand, B.; Büla, C.J. Depressed mood in a cohort of elderly medical inpatients: prevalence, clinical correlates and recognition rate. **Aging (Milano)**, v.12, p. 301-7, 2000.

Reynolds, E. Folic acid, ageing, depression and dementia. **BMJ**, v.324, p.1512-1515, 2000.

Rivetti, A.J.; Roth, J.A. Kinetic studies on the O-methylation of dopamine by human brain membrane-bound catechol O-methyltransferase. **Biochemistry**, v.21, p.1740-1742, 1982.

Rosenberg, I.H. B vitamins, homocysteine and neurocognitive function. **Nutrition Reviews**, v.59, p.S69-73, 2001.

Rubenstein, L.Z.; Harker, J.O.; Salva, A.; Guigoz, Y.; Vellas, B. Screening for undernutrition I geriatric practice: developing the short-form mini-nutritional assessment (MNA-SF). *The Journals of Gerontology. Serie A. Biological Sciences and Medical Science*, v.56, p.M366-M372, 2001.

Sampaio, L.R. Avaliação nutricional e envelhecimento. *Revista de Nutrição*. v.17, n.4, p.507-514, 2004.

Sampath, H.; Ntambi, J.M. Polyunsaturated fatty acid regulation of gene expression. *Nutrition Reviews*, v.62, p.333-339, 2004.

Schwab, J.M.; Serhan, C.N. Lipoxins and new lipid mediators in the resolution of inflammation. *Current Opinion in Pharmacology*, v.6, p.414-420, 2006.

Seidel, A.; Arolt, V.; Hunstiger, M.; Rink, L.; Behnisch, A.; Kirchner, H. Cytokine production and serum proteins in depression. *Scandinavian Journal of Immunology*, v.41, p.534-538, 1995.

Seko, C.; Ninno, N.; Nakamuro, K. Relationship between fatty acid composition in blood and depressive symptoms in the elderly. *Japanese Journal of Hygiene*, v.52, p.330-5, 1997.

Selhub, J.; Jacques, P.F.; Wilson, P.W.F.; Rush, D.; Rosenberg, I.H. Vitamin status and intake as primary determinants of homocysteinemia in an elderly population. *JAMA*, v. 270, p.2693-2698, 1993.

Shekh, J. I.; Yessage, J.A. Geriatric depression scale (GDS): recent evidence and development of a shorter version. *Clinical Gerontology*, v.5, p.165-73, 1986.

Smith, C.; Marks, A.D.; Lieberman, M.A. Tetrahydrofolate, vitamin B12 and S-adenosylmethionine. In: Smith C, Marks AD, Lieberman MA, Eds. **Marks' Basic Medical Biochemistry: A Clinical Approach**. 2ed. Baltimore: Lippincott, Williams & Wilkins, p.722-46. 2004.

Snowdon, J. How high is the prevalence of depression in old age? *Revista Brasileira de Psiquiatria*, São Paulo, v. 24, suppl 1, 2002.

Soria, C.; Chadeaux, B.; Coude, M.; Gaillard, O.; Kamoun, P. Concentration of total homocysteine in plasma in chronic renal failure. *Clinical Chemistry*, v.36, p.2137-2138, 1990.

Stella, F.; Gobbi, S.; Corazza, D.I.; Costa, J.L.R. **Depressão no Idoso: Diagnóstico, Tratamento e benefícios da Atividade Física**, Motriz: Rio Claro, v. 8, 3 p.91-98, 2002.

Stiles, P.G.; Culhane, D.P.; Hadley, T.R. Old and new: a comparison of state psychiatric hospitals. *Psychiatric Services*, v.47, n.8, p.866-868, 1996.

Suess, J.; Limentani, D.; Dameshesk, W. Quantitative method for the determination and charting of the erythrocyte hypotonic fragility. *Blood*, v.3, p.1290-1303, 1978.

Taylor, M.J.; Carney, S.M.; Goodwin, G.M.; Geddes, J.R. Folate for depressive disorders: systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. **Journal of Psychopharmacology**, v.18, p. 251-6, 2004.

Thampi, P.; Stewart, B.W.; Joseph, L.; Melnyk, S.B.; Hennings, L.J.; Nagarajan, S. Dietary homocysteine promotes atherosclerosis in apoE-deficient mice by inducing scavenger receptors expression. **Atherosclerosis** v.197, p.620–629, 2008.

Thomas, A.J.; Davis, S.; Morris, C.; Jackson, E.; Harrison, R.; O'Brien, J.T. Increase in interleukin-1b in late-life depression. **American Journal of Psychiatry**, v.162, p.75–77, 2005.

Tiemeier, H.; Van Tuijl, H.R.; Hofman, A.; Meijer, J.; Kiliaan, A.J.; Breteler, M.M. Vitamin B12, folate, and homocysteine in depression: the Rotterdam Study. **American Journal of Psychiatry**, v.159, p.2099-101, 2002.

Tiemeier, H.; Hofman, A.; van Tuijl, H.R.; Kiliaan, A.J.; Meijer, J.; Breteler, M.M. Inflammatory proteins and depression in the elderly. **Epidemiology**, v.14, p.103–107, 2003.

Tolmunen, T.; Hintikka, J.; Voutilainen, S.; Ruusunen, A.; Alfthan, G.; Nyysönen, K.; Viinamäki, H.; Kaplan, G.A.; Salonen, J.T. Association between depressive symptoms and serum concentrations of homocysteine in men: a population study. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.80, p.1574-1578, 2004.

Torres, R.M.; Miralles, R.; Garcia-Caselles, M.P.; Arellano, M.; Aguilera, A.; Pi-Figueras, M.; Cervera, A.M. Observational scale and geriatric depression scale of Yesavage to identify depression symptoms in older patients. **Archives of Gerontology and Geriatrics**, v.S9, p. 437-42. 2004.

Tuesca-Molina, R.; Fierro Herrera, N.; Molinares Sosa, A.; Oviedo Martínez, F.; Polo Arjona, Y.; Polo Cueto, J.; Sierra Manrique, I. Los grupos de socialización como factores protector contra la depresión en personas ancianas. Baranquilla, Colombia. **Revista Española de Salud Pública**, v.77, n. 5, 2003.

Vellas, B.; Guigoz, Y.; Garry, P.J.; Nourhashemi, F.; Bennahum, D.; Lauque, S.; Albaredo, J.L. The Mini Nutritional Assessment (MNA) and its use in grading the nutritional state of elderly patients. **Nutrition**, v.15, n.2, p. 116-122, 1999.

Vellas, B.; Guigoz, Y. Nutricional assessment as part of the geriatric evaluation. In: Rubenstein, I. Z.; Bernabei, R.; Wieland, D. **Geriatric assessment technology: state of the art**. Milano, Italy: Kurtiz Publishing Company, 1995.

Ventura, P.; Panini, R.; Verlato, C.; Scarpetta, G.; Salvioli, G. Hyperhomocysteinemia and Related Factors in 600 Hospitalized Elderly Subjects. **Metabolism**, v.50, n. 12, p. 1466-1471, 2001.

Veras, R. P. Desafios e conquistas advindas da longevidade da população: o setor saúde e as suas necessárias transformações. In: Lima, M.A.; Araujo, T. C.

N; Alves, M. I. C.; Sayd, J.; Figueiredo, M. C.; Vaena, M. L. H.T.; Imbassahy, M. **Velhice numa perspectiva de futuro saudável**. Rio de Janeiro: UERJ, UNATI, 2001.

Vetta, F.; Ronzoni, S.; Lupatelli, M.R.; Palleschi, L.; Migliori, M.; De Gennaro, E.; Lato, P.F.A.; Cicconetti, P.; Marigliano, V. Metabolic alterations in malnourished, depressed aged subjects. **Archives of Gerontology and Geriatric**, v. 6, p. 525-530, 1999.

van den Biggelaar, A.H.J.; Gussekloo, J.; de Craen, A.J.M; Frolich, M.; Stek, M.L.; van der Mast, R.C.; Westendorp, R.G.J. Inflammation and interleukin-1 signaling network contribute to depressive symptoms but not cognitive decline in old age. **Experimental Gerontology**, v.42, p.693-701, 2007.

von Eckardstein, A.; Malinow, M.R.; Upson, B.; Heinrich, J.; Schulte, H.; Schönfeld, R.; Köhler, E.; Assmann, G.I. Effects of age, lipoproteins and hemostatic parameter on the role of homocysteinemia as a cardiovascular risk factor in men. **Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology**, n. 14, p. 460-4, 1994.

Wang, H.; Jiang, X.; Yang, F.; Gaubatz, J.W.; Ma, L.; Magera, M.J.; Yang, X.; Berger, P.B.; Durante, W.; Pownall, H.J.; Schafer, A.I. Hyperhomocysteinemia accelerates atherosclerosis in cystathionine betasynthase and apolipoprotein E double knock-out mice with and without dietary perturbation. **Blood** v.101, p.3901–3907, 2003.

Weber, F.J.; Bont, J.A. Adaptation mechanisms of microorganisms to the toxic effects of organic solvents on membranes. **Biochimica et Biophysica Acta**, v.1286, p.225-245, 1996.

Weiss, N.; Keller, C.; Hoffmann, U.; Loscalzo, J. Endothelial dysfunction and atherothrombosis in mild hyperhomocysteinemia. **Vascular Medicine**, v. 7, p.227-239, 2002.

Werstuck, G.H.; Lentz, S.R.; Dayal, S.; Hossain, G.S.; Sood, S.K.; Shi, Y.Y.; Zhou, J.; Maeda, N.; Krisans, S.K.; Malinow, M.R.; Austin, R.C. Homocysteine induced endoplasmic reticulum stress causes dysregulation of the cholesterol and triglyceride biosynthetic pathways. **Journal of Clinical Investigation**, v.107, p.1263–1273, 2011.

Wilson, C.J.; Finch, C.E.; Cohen, H.J. Cytokines and cognition— the case for a head-to-toe inflammatory paradigm. **Journal of American Geriatric Society**, v.50, p.2041–2056, 2002.

Wiseman, H. Dietary influences on membrane function: importance in protection against oxidative damage and disease. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, v.7, p.2-15, 1996.

Woo, C.W.; Siow, Y.L.; Pierce, G.N.; Choy, P.C.; Minuk, G.Y.; Mymin, D.; Karmin, O. Hyperhomocysteinemia induces hepatic cholesterol biosynthesis and lipid

accumulation via activation of transcription factors. **American Journal Physiology - Endocrinology and Metabolism**, v.288, p.E1002–E1010, 2005.

Yehuda, S.; Rabinovitz, S.; Carasso, R.L; Mostofsky, D.I. Fatty acids and brain peptides. **Peptides**, v.19, p.407–419, 1998.

Zhu, B.T. Catechol-O-methyltransferase (COMT)-mediated methylation metabolism of endogenous bioactive catechols and modulation by endobiotics and xenobiotics: importance in pathophysiology and pathogenesis. **Current drug Metabolism**, v.3, p.321-349, 2002.

# Livros Grátis

( <http://www.livrosgratis.com.br> )

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)  
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)  
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)  
[Baixar livros de Matemática](#)  
[Baixar livros de Medicina](#)  
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)  
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)  
[Baixar livros de Meteorologia](#)  
[Baixar Monografias e TCC](#)  
[Baixar livros Multidisciplinar](#)  
[Baixar livros de Música](#)  
[Baixar livros de Psicologia](#)  
[Baixar livros de Química](#)  
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)  
[Baixar livros de Serviço Social](#)  
[Baixar livros de Sociologia](#)  
[Baixar livros de Teologia](#)  
[Baixar livros de Trabalho](#)  
[Baixar livros de Turismo](#)