

# COMPARAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE SELÊNIO EM SORO SANGUÍNEO DA POPULAÇÃO DE IDOSOS DA CIDADE DE SÃO PAULO COM OS DADOS DA LITERATURA

Mitiko Saiki<sup>1</sup>, Edson R. Alves<sup>1</sup>, Marina B.A. Vasconcellos<sup>1</sup>, Nairo M. Sumita<sup>2</sup>, Omar Jaluul<sup>2</sup>, Wilson Jacob Filho<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN-CNEN/SP)  
Laboratório de Análise por Ativação Neutrônica  
Av. Professor Lineu Prestes 2242  
05508-000 São Paulo, SP  
mitiko@ipen.br

<sup>2</sup> Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (FMUSP)  
Rua Dr Enéas de Carvalho Aguiar 155  
Cerqueira César, CEP 05403-010, São Paulo, SP

## RESUMO

No presente estudo o método de análise por ativação com nêutrons(AAN) foi aplicado a determinação de Se em soro sanguíneo em um grupo da população de trinta e dois idosos saudáveis com as idades variando de 60 a 87 anos e atendidos no Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da USP. Para análise amostra de sangue total foi submetida à centrifugação para separação do soro o qual foi liofilizado e obtido na forma de pó fino. As amostras de soro e o padrão de Se foram irradiados por 16 horas sob fluxo de nêutrons térmicos de  $5 \times 10^{12} \text{ n cm}^{-2} \text{ s}^{-1}$  do reator nuclear IEA-R1. O Se foi determinado pela medição da atividade  $^{75}\text{Se}$  de meia vida longa em um detector de Ge hiperpuro ligado um espectrômetro de raios gama. A concentração média de Se obtida para a população em estudo foi de  $(0,92 \pm 0,07) \mu\text{mol L}^{-1}$  a qual está dentro da faixa de concentrações de valores apresentadas na literatura e também dentro da faixa de concentrações utilizadas em laboratórios clínicos para população controle. A exatidão e a precisão dos resultados foram avaliadas pela análise dos materiais certificados de referência NIST 1566b Oyster Tissue, e NIST 1577b Bovine Liver obtendo se desvios padrão relativos inferiores a 4,8% e erros relativos inferiores a 0,97%. O valor de limite de detecção de  $0,003 \mu\text{mol L}^{-1}$  foi de obtido para AAN de Se no soro sanguíneo

## 1. INTRODUÇÃO

O selênio é um elemento essencial de fundamental importância para biologia humana. Sua importância vem crescendo em todas as faixas etárias pois este elemento participa de diversos processos metabólicos nos quais as enzimas glutatona peroxidases, em sinergismo com a vitamina E, atuam como antioxidantes[1]. Estas enzimas impedem a formação de radicais livres protegendo o organismo da agressão oxidativa.

Conseqüentemente a importância do selênio na saúde humana tem sido amplamente discutida [2]. Os trabalhos da literatura têm demonstrado que os indivíduos saudáveis apresentam níveis mais elevados de Se no sangue do que aqueles que são portadores de alguma doença. A deficiência de Se tem sido associada às doenças como cardiomiopatia conhecida como doença de Keshan, câncer e doença de coração[3].

Para estudos epidemiológicos e clínicos a concentração de selênio presente no soro ou no sangue total é geralmente utilizada como índice ou marcador de Se no organismo e como consequência vários estudos têm sido realizados sobre os níveis de selênio nestes materiais para estabelecimento de valor de referência para este elemento.

No presente estudo o método de análise por ativação com nêutrons (AAN) foi aplicado a determinação de Se em soro sanguíneo de um grupo da população de idosos saudáveis residentes na cidade de São Paulo, SP, para uma comparação com os valores deste da literatura.

## **2. MATERIAIS E MÉTODO**

Inicialmente foram estabelecidos protocolos adequados para coleta, tratamento e estocagem das amostras de soro sanguíneo para evitar o problema de sua contaminação.

### **2.1. Coleta das Amostras de Sangue e seu Tratamento para Análise**

Esta pesquisa foi aprovada pelos Comitês de Ética do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (FMUSP) e do Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN). Os doadores das amostras de sangue foram os idosos considerados saudáveis atendidos no Hospital das Clínicas da FMUSP para exames periódicos (“check-up”). Os indivíduos desta população foram inicialmente informados sobre o objetivo do presente estudo e convidados para exames médicos. Os doadores foram selecionados baseados no protocolo SENIEUR [4]. Os parâmetros de exclusão usados para selecionar os doadores foram: (a) alcoolismo e tabagismo, (b) doenças hepáticas, AIDS, doenças crônicas, diabetes e hipertensão, (c) hábitos alimentares atípicos (d) anemia, transfusão de sangue nos últimos 6 meses, (e) ingestão de suplementos vitamínicos e (f) doenças mentais.

Foi obtida de cada doador a carta de consentimento assinada para doação do sangue e as amostras foram coletadas após 12 horas de jejum de idosos com as idades entre 60 e 87 anos. Cerca de 10 mL de sangue total foram coletados usando agulha de injeção de aço inoxidável e colocados em tubos da marca BD Vacutainer sem o agente anti-coagulante. Os ensaios preliminares indicaram que não há contaminação do elemento Se pela liberação dos elementos da agulha e de materiais utilizados para coleta, tratamento, manuseio e estocagem das amostras utilizados neste trabalho. O sangue total coagulado foi centrifugado e 3 a 4 mL do soro foram transferidos para um frasco de polietileno da marca Nalgene. Para análise, este soro foi previamente submetido à secagem por liofilização. A perda de peso no processo de liofilização foi de cerca de 90,8%.

### **2.2. Procedimento Utilizado na Análise por Ativação do Soro Sanguíneo**

Alíquotas de cerca de 200 mg de cada amostra de soro pesadas em invólucros de polietileno foram irradiadas no reator IEA-R1 juntamente com o padrão sintético de Se. Este padrão sintético de Se foi preparado pipetando 50 µL da solução padrão diluída deste elemento sobre tiras de papel de filtro Whatman No. 40. A solução padrão estoque de Se utilizada foi da Spex Certiprep Chemical, USA. A massa de Se no padrão foi de 40,0 µg. O tempo de irradiação foi de 16 horas sob fluxo de nêutrons térmicos de  $5 \times 10^{12} \text{ cm}^{-2} \text{ s}^{-1}$ . Após cerca de 12 dias de decaimento, as amostras e o padrão de Se foram medidos usando um detector de Ge hiperpuro Modelo GX2020 acoplado a um Processador Integrado de Sinais Modelo 1510, ambos da marca Canberra. A resolução (FWHM) do sistema utilizado foi de 0,90 keV para o pico de 122 keV do  $^{57}\text{Co}$  e de 1,87 keV para o pico de 1332 keV do  $^{60}\text{Co}$ . O tempo de contagem da amostra foi de 36.000 a 450.00 s e o do padrão foi de 6.000 s. O radioisótopo medido foi  $^{75}\text{Se}$  com a meia vida de 119,8 d e energia dos raios gama de 264,66 keV. A concentração do Se foi calculada pelo método comparativo.

A qualidade do resultado analítico foi avaliada pela análise dos materiais certificados de referência NIST 1566b Oyster Tissue e NIST 1577b Bovine Liver ambos procedentes do National Institute of Standards and Technology (NIST), EUA. Estes materiais foram analisados aplicando as mesmas condições experimentais utilizadas na análise do soro.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tabela 1 estão os resultados (media aritmética e faixa das concentrações) de Se obtidos em 32 amostras de soro de idosos considerados saudáveis, juntamente com os valores utilizados nos laboratórios clínicos bem como aqueles apresentados na literatura, para comparação.

**Tabela 1. Média e faixa de concentrações de selênio, em  $\mu\text{mol L}^{-1}$ , no soro sanguíneo.**

Média $\pm$ DP <sup>a</sup>	Faixa de concentrações	N <sup>b</sup>	Faixa de idade anos	Referência
0,92 $\pm$ 0,07	0,58 – 1,41	32( 9M e 23F)	60-87	Presente trabalho
1,067 $\pm$ 0,119	0,650 – 1,541	26 (13M e 13F)	23-69	5
1,14 $\pm$ 0,22	Mediana=1,12	62 (46M e 16F)	60-90	6
0,814 $\pm$ 0,161	-	109M	Adultos	7
-	0,51 – 1,81 <sup>c</sup>	-	-	8
0,927 $\pm$ 0,125	0,716 – 1,196	30 (23M e 7F)	Média = 39,93	9
1,736 $\pm$ 0,242	0,929 – 3,869	768 (grupo controle)	-	10

a. DP = desvio padrão; b. N = número de indivíduos. O número antes da letra M indica número de indivíduos do sexo masculino e antes do F indica o número de indivíduos do sexo feminino; c. Faixa de concentrações em uso nos laboratórios clínicos como controle.

A Tabela 1 mostra que as concentrações de Se obtidos para a população de idosos residentes em São Paulo estão dentro da faixa de concentrações apresentadas na literatura bem como do valor utilizado nos laboratórios clínicos para população controle

Os resultados das análises dos materiais certificados de referência NIST 1566b Oyster Tissue e NIST 1577b Bovine Liver são apresentados na Tabela 2 juntamente com os valores dos certificados. Os resultados obtidos indicam boa exatidão e precisão, com desvios padrão relativos inferiores a 4,8% e erros relativos inferiores a 0,97%. Os valores de Z-score ou de diferença padronizada[13] obtidos foram  $IZI < 1$  o que indica que os resultados obtidos são satisfatórios.

**Tabela 2. Concentrações de Se, em  $\mu\text{g g}^{-1}$ , obtidas nos materiais de referências NIST 1566b Oyster Tissue e NIST 1577b Bovine Liver**

Materiais de referência	Este trabalho				Valor Certificado [11,12]
	Média $\pm$ DP (N) <sup>a</sup>	DPR <sup>b</sup> , %	Er <sup>c</sup> , %	Z score	
Oyster Tissue	2,08 $\pm$ 0,05 (9)	2,4	0,97	+ 0,8	2,06 $\pm$ 0,15
Bovine Liver	0,754 $\pm$ 0,036 (4)	4,8	0,03	+ 0,3	0,73 $\pm$ 0,06

a. DP= desvio padrão e N = número de determinações; b. DPR= desvio padrão relativo; c. Er = erro relativo

Para se ter uma idéia da sensibilidade do método de análise por ativação na determinação de Se no soro sanguíneo foi calculado o valor de limite de detecção segundo o critério de Currie [14] e cujo valor obtido foi de  $0,003 \mu\text{mol L}^{-1}$

#### 4. CONCLUSÃO

Os resultados obtidos indicaram que o procedimento adotado neste trabalho pode ser aplicado com sucesso na determinação de Se em amostras de soro sanguíneo. Os resultados sugerem a determinação deste elemento para um número maior de indivíduos para o estabelecimento de valor de referência ou de controle.

#### AGRADECIMENTOS

A Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (Processo No. 2004/06913-9) e Conselho Nacional de desenvolvimento Científico e Tecnológico (Processo 550976/2002-7) pelos auxílios concedidos.

## REFERENCIAS

1. A. S. Prasad, *Trace Elements in Human Health and Disease*, Academic press, NY, USA, (1976)
2. M.P. Rayman, "The importance of selenium to human health", *The Lancet*, v, **356**, pp.233-241, (2000.)
3. J. Kucera, V. Bencko, E. Sabbioni, M.T. Van der Venne,"Review of trace elements in blood, serum and urine for the Czech and Slovak populations and critical evaluation of their possible use as reference values", *The Science of the Total Environment*, v. **166**, pp 211-234, (1995)
4. G.J. Ligthart, J.X. Corberand, C. Fournier, P. Galanaud, W. Hijmans, B. Kennes, H.K. Muller-Hermelink, G.G. Steinmann, "Admission criteria for immunogerontological studies in man: The SENIEUR protocol", *Mechanism of Ageing and Development*, v.28, pp. 47-55(1984)
5. R. van Cauwenberg, H. Robberecht, V. van Vlaslaer, H. Deelstra, "Comparison of the serum selenium content of healthy adults living in the Antwerp region (Belgium) with recent literature data", *Journal of Trace Element in Medicine and Biology*, v.**18**, pp.99-112(2004)
6. L. Savarion, D. Granchi, G.Ciapetti, E. Cenni, G. Ravaglia, P. Forti, F. Maioli, R. Mattioli, "Serum concentrations of zinc and selenium in elderly people: results in healthy nonagenarians/centenarians", *Experimental Gerontology*. v.**36**, pp. 327-339 (2001)
7. F. Kotesovec, I. Miskova, "Evaluation of non-professional exposure to fluoride – a necessary prerequisite for assessment of professional exposure – Part II, *Pracov. Lek*, v.**34**, pp. 102-105 (1982) apud J. Kucera, V. Bencko, E. Sabbioni, M.T. van der Venne, "Review of trace elements in blood, serum and urine for the Czech and Slovak populations and critical evaluation of their possible use as reference values", *The Science of the Total Environment*, v. **166**, pp. 241-234(1995).
8. N.W. Tietz, *Clinical Guide to Laboratory Tests*, W.B. Saunders Company, Philadelphia, 1995.
9. S. Cunha, F.M. Albanesi Filho, D.S. Antelo, M.M. Souza, "Serum sample levels of selenium and copper in healthy volunteers living in Rio de Janeiro city", *The Science of the Total Environment*, v. **301**, pp 51-54(2003).
10. S. Sturup, R.B. Hayes, U. Peters, 'Development and application of a simple routine method for the determination of selenium in serum by octopole reaction system ICPMS", *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, v. **381**, pp 686-694, 2005
11. National Institute of Standards and Technology, *Certificate of analysis- Standard reference material 1566b Oyster Tissue*, pp.1-8, (2001).
12. National Institute of Standards and Technology, *Certificate of analysis- Standard reference material 1577b Bovine Liver*, pp.1-4, (1991).
13. P. Bode, *Instrumental and Organizational Aspects of a Neutron Activation Analysis Laboratory*, PhD Thesis, Delft University of Technology, pp.148 (1996).
14. L. A. Currie, "Limits for qualitative detection and quantitative determination. Application to radiochemistry", *Analytical Chemistry*, v. **40**, pp. 586-593(1968).