

Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Faculdade de Medicina

Programa de Pós-Graduação em Medicina: Ciências Médicas

**Possível influência do polimorfismo T102C do gene 5HT_{2A} no
tempo de vida médio dos seres humanos**

Paulo Fernandes Costa Jobim

Orientador: Prof. Dr. Roberto Giugliani

Co-orientadora: Prof (a). Dr (a). Ivana Beatrice Mânica da Cruz

**Dissertação de Mestrado apresentada
como requisito parcial para a obtenção do
título de mestre em Ciências Médicas,
Universidade Federal do Rio Grande do
Sul, Programa de Pós-Graduação em
Ciências Médicas.**

Porto Alegre, fevereiro de 2008.

Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Faculdade de Medicina

Programa de Pós-Graduação em Medicina: Ciências Médicas

**Possível influência do polimorfismo T102C do gene 5HT_{2A} no
tempo de vida médio dos seres humanos**

Paulo Fernandes Costa Jobim

Orientador: Prof. Dr. Roberto Giugliani

Co-orientadora: Prof (a). Dr (a). Ivana Beatrice Mânica da Cruz

**Dissertação de Mestrado apresentada
como requisito parcial para a obtenção do
título de mestre em Ciências Médicas,
Universidade Federal do Rio Grande do
Sul, Programa de Pós-Graduação em
Ciências Médicas.**

Porto Alegre, fevereiro de 2008.

J62p **Jobim, Paulo Fernandes Costa**

Possível influência do polimorfismo T102C do gene 5HT2A no tempo de vida médio dos seres humanos / Paulo Fernandes Costa Jobim; orient. Roberto Giugliani ; co-orient. Ivana Beatrice Mânica da Cruz. – 2008.

143 f. : il.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Faculdade de Medicina. Programa de Pós-Graduação em Medicina: Ciências Médicas, Porto Alegre, BR-RS, 2008.

1. Esperança de vida 2. Polimorfismo genético 3. Envelhecimento 4. Serotonina 5. Receptor 5-HT2A de serotonina I. Giugliani, Roberto II. Cruz, Ivana Beatriz Mânica da III. Título.

NLM: WT 116

Catálogo Biblioteca FAMED/HCPA

Fonte de financiamento

Este trabalho foi financiado pelo Conselho Nacional de Pesquisa (CNPq) e pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES). Número do financiamento 92.926.856/0001-98.

Agradecimentos

Agradeço a minha amada esposa, Carla, pelo companheirismo, pela lealdade e pelo amor incondicional que existe em nosso lar.

Agradeço a meu pai, Paulo Henrique, pela orientação de vida.

Agradeço a minha mãe, Thais, pelos cuidados e carinho.

Agradeço a Deus, seja ele o que for, pela minha vida.

Agradeço a família da minha esposa, Leonoldo, Elizabete, Leandro, Jorge e Cláudia, por me mostrarem, principalmente, que ter fé vale a pena.

Agradeço ao meu orientador, Roberto Giugliani, por ter acreditado no meu trabalho.

Agradeço a minha co-orientadora, Ivana da Cruz, pela amizade.

Agradeço ao meu grande amigo, João, por fazer minha vida mais engraçada.

Agradeço a todos que gostam de mim e principalmente aos que demonstram isso.

Dedicatória

**Dedico esta dissertação a todos que um dia possam, por ventura,
precisar das informações nela contida.**

“Quarenta anos é a velhice dos jovens; cinquenta anos é a juventude dos velhos”

Victor Hugo

"A mente que se abre a uma nova idéia jamais voltará ao seu tamanho original"

Albert Einstein

Sumário

Resumo.....	10
Abstract.....	11
Lista de figuras.....	12
Lista de tabelas.....	13
Lista de abreviaturas e siglas.....	14-15
1- Introdução.....	16-19
2- Revisão da Literatura.....	20-41
2.1 - Envelhecimento.....	20-23
2.2- Tempo de vida.....	24-26
2.3- Expectativa de vida.....	27-32
2.4-Genética da longevidade.....	33-34
2.5- Serotonina.....	35-36
2.6- O Polimorfismo T102C do gene 5-HT2A.....	37-41
3- Objetivos.....	42
3.1- Gerais.....	42
3.2- Específicos.....	42
4- Referências da Revisão da Literatura.....	43-54
5- Article submitted to Brazilian Journal of Medical and Biological Research.....	55-78
6- Artigo submetido para revista Brazilian Journal of Medical and Biological Research	79-102

7- Considerações finais.....	103-105
8- Anexos.....	106-144
8.1- Parecer de aprovação do Comitê de Ética.....	106
8.2- Primeiro artigo da produção científica publicado na revista Cadernos de Saúde Pública.....	107-127
8.3- Segundo artigo da produção científica publicado na revista de Ciências & Saúde Pública.....	128-144

Resumo

Doenças e comportamentos de risco relacionados ao polimorfismo T102C do gene 5-HT2A, como esquizofrenia, suicídio, impulsividade, alcoolismo, tabagismo, entre outros, podem encurtar o tempo de vida médio. Uma amostra de 687 indivíduos residentes na região metropolitana da Grande Porto Alegre foi genotipada e categorizada de acordo com suas respectivas idades e gêneros. Foram observadas diferenças significativas entre a distribuição dos genótipos do polimorfismo T102C do gene 5-HT2A e idade média da amostra ($p=0,026$) e também entre os genótipos e grupos etários ($p=0,012$). Estes resultados sugerem que o polimorfismo T102C do gene 5-HT2A possa desempenhar algum papel no tempo de vida médio dos seres humanos.

Palavras Chaves: tempo de vida médio; serotonina; receptor 2A da serotonina; polimorfismo T102C; envelhecimento; gene 5-HT2A.

Abstract

Diseases and risk behaviors related to the T102C polymorphism of the 5-HT2A gene such as schizophrenia, suicide, impulsivity, alcoholism, smoking addiction, among others, may potentially shorten mean life span. A sample of 687 individuals residents in Porto Alegre metropolitan region was genotyped and categorized according to their respective age and gender. Significant differences were found between the distribution of genotypes of T102C polymorphism of gene 5-HT2A and the mean age of the sample ($p=0.026$) as well as distribution of genotypes and age groups ($p=0.012$). The present results suggest that T102C polymorphism of gene 5-HT2A may play a role in mean life span of human beings.

Key Words: mean life span; serotonin; receptor 2A of serotonin; T102C polymorphism; aging, 5-HT2A gene.

Lista de figuras

Figura 1 - Fatores determinantes do processo de envelhecimento e conseqüente diminuição da capacidade de manutenção do equilíbrio homeostático.....33

Figura 2 - Sítio da mutação de ponto T102C do gene 5-HT2A.....37

Lista de tabelas

Tabela 1 - Principais componentes do envelhecimento considerando diversos níveis biológicos.....	21
Tabela 2 - Expectativa de vida ao nascer no Brasil, 1940 a 1999.....	29
Tabela 3 - Expectativa de vida nos estados brasileiros.....	30
Tabela 4 - Síntese das patologias e comportamentos relacionados ao polimorfismo T102C do gene 5-HT2A.....	38

Lista de siglas e abreviaturas

5-HT2A - Gene que codifica o receptor 2A de serotonina

T102C – Variante genética do gene 5-HT2A

2A – Receptor de serotonina

DNA – Ácido desoxirribonucléico

5-HT – Serotonina

mRNA – Ácido ribonucléico mensageiro

C – Alelo C

T – Alelo T

CC – Genótipo CC

TT – Genótipo TT

TC – Genótipo TC

ONU – Organização das Nações Unidas

INSS – Instituto Nacional de Seguro Social

IC – Índice de cefalização

K – Estratégia evolutiva comportamental de cuidados da prole pequena

R - Estratégia evolutiva comportamental de gerar uma prole grande

RS – Rio Grande do Sul

AA - Amino Ácido

5-HTP – Triptofano

EDRF - Fator de relaxamento derivado do endotélio

5-HT1 – Família de receptores de serotonina

5-HT2 - Família de receptores de serotonina

5-HT4 – Família de receptores de serotonina

5-HT3 - Família de receptores de serotonina

Na⁺ - Íon de Sódio

K⁺ - Íon de Potássio

Kb – Kilo bytes

HDL – High Density Lipoprotein

1. Introdução

A mudança no perfil do envelhecimento populacional, antes exclusiva dos países desenvolvidos, está também acontecendo no Brasil desde a década de 60 (Wong e Carvalho, 2006). Desta forma, a expectativa de vida da população brasileira e, principalmente, da população gaúcha está crescendo (IBGE, 2005). Este fato se deve possivelmente a maior similaridade sócio-econômica com os países desenvolvidos e a questões genéticas.

Dentro da complexidade do processo de envelhecimento populacional, estão as interações genético-ambientais. Os genes desempenham um papel importante sobre a longevidade (Cruz, 2002). Dados demográficos demonstram que a expectativa de vida, ou tempo de vida médio, vem aumentando devido à melhora na qualidade de vida da população (Chaimowicz, 1997). Contudo, especula-se que o tempo de vida máximo seja fixo, ou seja, geneticamente programado. Quanto maior a expectativa de vida, mais o ser humano se aproxima do tempo de vida máximo da espécie, que é em torno de 122 anos (Goldsmith, 2006).

Nos seres humanos, o envelhecimento está muito ligado ao aparecimento de doenças. Entretanto, tal associação não é obrigatória. Troen (2003) classifica o envelhecimento como normal e usual. O envelhecimento normal seria aquele em que somente as próprias modificações associadas ao envelhecimento estariam presentes. Já no envelhecimento usual, além das modificações associadas ao envelhecimento, ocorreriam doenças.

Para tentar entender o processo de envelhecimento várias teorias do envelhecimento têm sido formuladas. De forma geral estas podem ser agrupadas em dois grandes grupos, as teorias estocásticas e teorias da genética do desenvolvimento. O cerne das teorias estocásticas é a idéia que tal processo advém de modificações que ocorrem ao acaso. Ou seja, não existiria um mecanismo pré-determinado. Esta visão do envelhecimento baseia-se no fato de que a força seletiva diminui ou tende a zero após o período reprodutivo. Assim, genes que potencialmente aumentariam a vida de um indivíduo não poderiam ser passados para a próxima geração, visto que a sua expressão ocorreria após o período reprodutivo. Assim, um dado organismo apresentaria uma determinada capacidade fisiológica que o permitiria reproduzir e cuidar da prole, e, após este período, a ação de fatores estocásticos levaria ao desgaste orgânico. Tais perdas levariam ao aparecimento das modificações biológicas que caracterizam o envelhecimento e a morte (Hayflick, 1996). Entre as teorias estocásticas mais conhecidas, destacam-se: a teoria da mutação somática e reparo de DNA, do erro catastrófico, da modificação protéica e do estresse oxidativo (Troen, 2003).

As teorias da genética do desenvolvimento postulam que o envelhecimento possui uma programação genética espécie-específica, podendo ser modulado por fatores ambientais. O principal argumento para explicar como teria evoluído a programação genética do envelhecimento baseia-se na idéia de que o mesmo conjunto de genes que poderiam se expressar em fases precoces da vida de modo benéfico poderiam ter efeitos negativos no período pós-reprodutivo, determinando o envelhecimento. Portanto, estas teorias partem do pressuposto que o

envelhecimento seria um subproduto de outro momento do desenvolvimento e que seria um processo ecologicamente importante para a sobrevivência das espécies (Finch e Stanford, 2004). Entre as teorias genéticas mais conhecidas, destacam-se: o antagonismo pleiotrópico, genes da longevidade, síndromes do envelhecimento acelerado, teoria neuroendócrina, teoria imunológica, senescência celular e morte celular (Troen, 2003).

O envelhecimento é influenciado por causas multifatoriais, incluindo a ação gênica. Existem genes cuja ação aumenta a capacidade fisiológica ou reserva orgânica e, assim, indiretamente, podem aumentar o potencial de longevidade. Cabe ressaltar que mesmo havendo genes "que carreguem uma longevidade potencial", este fenótipo é altamente influenciado pelo ambiente (Arking, 1998).

A serotonina (5-HT) é uma molécula ancestral que desempenha papel de neurotransmissor. Estudos recentes mostram que a serotonina está envolvida em uma ampla gama de patologias como adição a álcool e tabaco, agressão, impulsividade, dentre outras. Assim, genes relacionados ao sistema serotoninérgico podem ser considerados elegíveis para estudos sobre o tempo de vida médio humano. A serotonina atua sobre inúmeras funções fisiológicas e comportamentais através de quatorze receptores. Entre eles está o receptor 2A. Este receptor está relacionado a disfunções afetivas, distúrbios alimentares e de humor e outras patologias psiquiátricas. O gene 5-HT2A que codifica o receptor 2A está localizado na região 14-21 do braço longo do cromossomo 13 e apresenta três exons e dois introns. Existem nove polimorfismos descritos neste gene. Um deles, conhecido como polimorfismo T102C, é alvo de estudos relacionados a doenças vasculares,

como infarto agudo do miocárdio e hipertensão, e psiquiátricas, como esquizofrenia, depressão e suicídio (Sanders-Bush, 2003).

Descrito por Warren e seus colaboradores em 1993, este polimorfismo está na posição nucleotídica 102 do gene e envolve uma mutação de ponto, com substituição de uma timina por uma citosina. O polimorfismo T102C não determina uma estrutura diferente do receptor serotoninérgico 2A, mas uma menor expressão do seu mRNA através da presença do alelo C (Poleskaya, 2002). A frequência alélica deste polimorfismo na população caucasiana é de 60% e 40% para o alelo C e T, respectivamente, e a frequência do genótipo TC é 48% (Warren, 1993). A fração atribuída do alelo C na população em um estudo mais recente foi de 0,067 e 0,101 para o genótipo CC (Abdolmaleky, 2004).

O polimorfismo T102C do gene 5-HT2A pode estar relacionado ao tempo de vida médio por acarretar maior ou menor suscetibilidade a patologias que potencialmente encurtam o tempo de vida. Desta forma, sendo o Rio Grande do Sul (RS) o estado com a maior expectativa de vida do Brasil, a verificação das frequências alélicas e genotípicas do polimorfismo T102C do gene 5-HT2A pode ser importante para auxiliar no entendimento do envelhecimento populacional e dos fatores genéticos que influenciam o tempo de vida médio da população gaúcha.

2. Revisão da Literatura

2.1. Envelhecimento

Kirkland (2002) define o processo de envelhecimento como:

“Um processo progressivo, universal e intrínseco onde alterações ocorrem em diferentes taxas entre os vários órgãos de um indivíduo”

Segundo o relatório do *Viena International Plan of Action on Ageing*, endossado pela I Assembléia Mundial da Organização das Nações Unidas sobre envelhecimento da população, Resolução 39/125 (ONU, 1982), indivíduos com 60 anos ou mais são considerados idosos, ainda que entre 60 e 65 anos de idade os indivíduos possam ser economicamente ativos. Por este motivo, quando se fala de envelhecimento brasileiro, considera-se o aumento no número de indivíduos com idade igual ou superior a 60 anos na população.

Carvalho e Garcia (2003), em seu estudo sobre o processo de envelhecimento brasileiro, utilizou a seguinte definição sobre este fenômeno:

“O envelhecimento populacional não se refere nem a indivíduos, nem a cada geração, mas sim a mudança na estrutura etária da população, o que produz um aumento do peso relativo das pessoas acima de determinada idade, considerada como definidora do início da velhice. Este limite inferior varia de sociedade para

sociedade e depende não somente de fatores biológicos, mas também econômicos, ambientais, científicos e culturais”

O envelhecimento é parte do desenvolvimento biológico, que em geral cumpre as seguintes etapas: (1) formação do zigoto, (2) desenvolvimento embrionário, (3) desenvolvimento fetal, (4) nascimento, (5) infância, (6) adolescência, (7) fase adulta, (8) velhice e (9) morte. A morte pode acontecer em qualquer uma das etapas anteriores, mas com o aumento da expectativa de vida, espera-se que ela ocorra para a maioria dos indivíduos a partir dos 70 anos. O envelhecimento humano constitui-se, então, de alterações morfofisiológicas ao longo do tempo, tanto nos seus aspectos biológicos quanto cronológicos. Uma revisão realizada por Troen (2003) sobre a biologia do envelhecimento, aponta que os efeitos causados por tal processo são: 1º) aumento da mortalidade; 2º) mudanças na composição bioquímica dos tecidos; 3º) diminuição da capacidade fisiológica; 4º) redução na capacidade de resposta adaptativa a estímulos ambientais; 5º) aumento da vulnerabilidade a doenças.

Uma síntese dos níveis e componentes do organismo modificados ao longo do envelhecimento, com base no livro *“Como e porque envelhecemos?”* de Leonard Hayflick (1996), é apresentada na tabela 1.

Tabela 1 - Principais componentes do envelhecimento considerando diversos níveis biológicos.

Nível	Componentes
Molecular	Manutenção do sistema de reparo do genoma; fidelidade na transferência da informação genética; processamento das moléculas; síntese de proteínas; controle de radicais livres.
Celular	Manutenção, controle e regulação da diferenciação celular; estabilidade das condições homeostáticas da célula.
Fisiológico	Resposta neuronal, hormonal, imune e de termo-regulação.
Histológico e Anatômico	Neutralização e remoção de substâncias tóxicas; regeneração tecidual; morte e trocas celulares.

Fonte: Hayflick, 1996

As teorias biológicas do envelhecimento podem ser classificadas em duas categorias: genéticas do desenvolvimento e estocásticas. As teorias genéticas entendem o envelhecimento como um processo contínuo e controlado geneticamente, enquanto as estocásticas, como um processo que depende, principalmente, do acúmulo de agressões ambientais. Tanto as teorias genéticas do desenvolvimento quanto as teorias estocásticas, ainda não possuem uma comprovação definitiva (Farinatti, 2002).

Dentre as teorias estocásticas mais conhecidas, destacam-se: a teoria da mutação somática e reparo de DNA, do erro catastrófico, da modificação protéica e do estresse oxidativo. Por outro lado, dentre as teorias genéticas mais conhecidas, destacam-se: o antagonismo pleiotrópico, genes da longevidade, síndromes do

envelhecimento acelerado, teoria neuroendócrina, teoria imunológica, senescência celular e morte celular (Troen, 2003).

A teoria do antagonismo pleiotrópico foi proposta por George Williams em 1957. Esta teoria propõe que alguns genes geram características benéficas em idades anteriores ao sucesso reprodutivo, justamente para que este seja atingido. Estes mesmos genes em idades avançadas trazem características desvantajosas, gerando conseqüências adversas tardias.

2.2.Tempo de Vida

O tempo de vida é espécie-específico. Sendo assim, é também geneticamente programado. Tempo de vida significa, em outras palavras, o máximo de tempo que uma determinada espécie vive. No caso dos seres humanos, ainda existem muitas controvérsias na literatura. Um livro mais antigo aponta para 115 anos (Hayflick, 1996), enquanto outro, mais recente, para 122 anos (Goldsmith, 2006).

Uma reportagem do jornal Zero Hora, publicada em Porto Alegre, do dia 16 de outubro de 2007, notificou sobre a mais velha pensionista do INSS. Era uma mulher de 127 anos, de acordo com sua certidão de nascimento e carteira de identidade. (Agência Estado, 2007). Um estudo feito por Richard Cutler (1979) comparou o *índice de cefalização* de 150 espécies. Este índice é obtido a partir da relação entre o peso do cérebro e o peso do corpo e quanto maior o índice, maior é a longevidade da espécie. Este estudo mostrou que o tempo de vida aumentou para todas as espécies que não estão extintas, sendo que o tempo de vida da espécie humana foi o que mais aumentou. Cutler partiu do pressuposto de que as diferenças genéticas entre humanos e chimpanzés são de 1%. Como os humanos têm praticamente o dobro do tempo de vida dos chimpanzés, a diferença do tempo de vida entre estas espécies estaria envolvida com estes genes.

Com base no índice de cefalização, é estimado o tempo de vida das espécies de homínídeos extintas, através de seus crânios e outros ossos disponíveis. Há cerca de 3.5 milhões de anos, o *Australopithecus afarensis* vivia, no máximo, até 57 anos. Posteriormente, dois mil anos atrás, o *Homo habilis* podia comemorar seu

aniversário de 68 anos. Assim, o tempo de vida humano foi aumentando nos últimos cem mil anos. Existem indícios de que muitos mamíferos também aumentaram seu tempo de vida ao longo da evolução (Goldsmith, 2006). O efeito genético deste aumento pode estar relacionado, pelo menos em parte, aos genes de efeito pleotrópico antagonista. Estes genes têm um papel chave para a sobrevivência do organismo até a idade reprodutiva. No entanto, na idade pós-reprodutiva, são desvantajosos, pois podem levar ao surgimento de doenças que potencialmente reduzem o tempo de vida. Estes genes são selecionados porque são “bons” para os fins de sobrevivência da espécie (Cruz, 2003).

Uma outra contribuição para o aumento no tempo de vida humano é a capacidade redundante, que confere vantagens a organismos para que os mesmos atinjam a idade reprodutiva. A capacidade redundante é entendida como uma reserva fisiológica que garante o sucesso reprodutivo do organismo. Os seres humanos têm uma grande capacidade redundante comparados aos demais mamíferos. Assim, esta capacidade é passada ao longo das gerações, aumentando gradualmente a longevidade dos seres humanos (Hayflick, 1996).

Quanto ao sucesso reprodutivo e aumento do tempo de vida humano, é pertinente salientar que os seres humanos são estrategistas em “k” (“estrategistas em K” é um termo referente à estratégia de sobrevivência da prole, de forma que a mesma recebe cuidados até o momento em que deixa de ser vulnerável à predação. Neste caso, a prole é pequena.). Isso significa que a espécie investe mais energia no cuidado da prole. Os humanos têm um menor grau de fecundidade e um maior tempo de vida se comparado com outras espécies de animais estrategistas em “R”,

que morrem pouco tempo depois de terem cumprido sua missão, que é a reprodução. Contudo, estes animais deixam uma prole grande, aumentando, desta forma, a probabilidade de sobrevivência dos descendentes (Martin, 2007).

2.3. Expectativa de Vida

Segundo Finch, os ancestrais dos seres humanos evoluíram em dois aspectos principais.: 1º) à troca de uma alimentação a base de vegetais por uma dieta a base de carne e 2º) a um aumento na expectativa de vida. Existem evidências que em torno de 8 mil a 1.7 milhões de anos atrás os ancestrais humanos eram carnívoros. Estes dois aspectos parecem ser, a priori, antagônicos, pois o consumo de carne é relacionado ao aumento do colesterol, que é fator de risco para doenças vasculares, e doença de Alzheimer, além de aumentar a probabilidade de infecções.

Contudo, os autores propõem que um grupo de genes, chamados genes adaptativos ao consumo de carne, fixou-se no genoma humano, permitindo que seus ancestrais pudessem se tornar carnívoros, minimizando os efeitos nocivos da ingestão de carne. Neste caso, os genes são favoráveis ao aumento da expectativa de vida por minimizar doenças agudas e crônicas. Os autores sugerem que esta transição de dieta possibilitou aos seres humanos a aquisição de um período prolongado de infância e juventude, pois neste estágio da vida, era necessário aprender a caçar e desenvolver habilidades para isto. Também ocorreu um prolongamento no período pós-reprodutivo, uma vez que os indivíduos mais velhos transmitiam seus conhecimentos para as gerações seguintes, havendo assim um atraso na maturação e envelhecimento, aumentando a expectativa de vida do homem (Finch, 2004).

A expectativa de vida, ou tempo de vida médio, ou longevidade média, é uma projeção futura, ou seja, a “expectativa” de viver até uma determinada idade. A

expectativa de vida é calculada para uma população, e não para uma pessoa, onde o cálculo é feito através das chamadas tábuas de vida. A primeira tábua de vida foi feita por Edmund Halley, em 1693. As tábuas de vida são obtidas através de uma coorte ou através da análise de dados transversais. Neste segundo caso, os dados da tábua são provenientes de uma coorte hipotética de pessoas que nasceram em um ano específico, sendo que nesta “coorte virtual”, os dados são projetados no futuro, aplicando-se às atuais taxas de mortalidade a cada ano até a morte do último membro da coorte (Hayflick, 1996).

No início do século XX e nas quatro décadas subseqüentes, o Brasil apresentou características demográfico-sanitárias tipicamente encontradas em países em desenvolvimento, sendo as doenças infecto-parasitárias a maior causa de mortalidade. Entretanto, a partir de 1940, com implementação de condições médico-sanitárias mais efetivas, a maior freqüência de mortes no Brasil ocorreu devido a doenças não-transmissíveis, que na sua maior parte, são doenças crônico-degenerativas associadas à idade (Chaimowicz, 1997).

Silvestre propõe que os quatro estágios demográficos de uma população que está envelhecendo, como é o caso do Brasil, são: 1º) alta fecundidade e alta mortalidade com grande número de jovens; 2º) alta fecundidade e redução da mortalidade com um aumento do número de jovens; 3º) redução da fecundidade e da mortalidade com o aumento do número de adultos jovens e progressivamente de idosos, 4º) fecundidade e mortalidade diminuem em todos os grupos etários com o aumento contínuo no número de idosos.

Em grande parte, esta mudança ocorreu devido a uma estabilização na

estrutura etária que apresentava baixas oscilações nas taxas de natalidade e mortalidade até 1940. Após este período, a taxa de mortalidade populacional passou a apresentar um declínio acentuado devido à diminuição na mortalidade infantil. Este fenômeno fez com que, nas três décadas subseqüentes, o número de jovens se tornasse maior do que os demais grupos etários, ou seja, cerca de 43% da população era jovem, enquanto que apenas 2.5% da população tinha idade superior a 60 anos. Paralelamente, neste mesmo período, observou-se um declínio da fecundidade enquanto o número de pessoas idosas aumentava anualmente. Por volta da década de 40, as mulheres, em média, tinham seis filhos. Atualmente, esta média é menor, em torno de dois filhos (Carvalho, 2003).

Na década de 70, o Brasil contava com aproximadamente 385 pessoas centenárias. Em 1994, este número passou para 4.602 pessoas, sendo que destas, 582 eram homens e 4020 eram mulheres, ou seja, existiam cerca de oito vezes mais mulheres centenárias do que homens. A velocidade em que aumenta o número de centenários é tão galopante que, neste início do milênio, o número previsto de pessoas com mais de cem anos de idade já ultrapassa os 10.000 (Cruz, 2000).

Atualmente, a expectativa de vida de um indivíduo idoso de 65 anos é de aproximadamente 15 anos e, para os de 75 anos, é de 10 a 11 anos. Um estudo realizado por Camarano (2002) sobre o envelhecimento brasileiro comenta que, no ano de 2001, a população idosa estimada no Brasil era de 15 milhões de habitantes. Este número mostra que a participação deste grupo etário passou de 4% em 1940-60 para 8% em 1996. Projeções estimam que os idosos sejam 15% da população brasileira no ano de 2020. Este crescimento demográfico da população idosa fará

com que o Brasil, que hoje está na 16ª posição em relação ao número de idosos, ocupe a 6ª posição.

Com base nestes dados, pode-se dizer que no Brasil, o fenômeno de envelhecimento populacional está seguindo as mesmas tendências mundiais, pois a população vem envelhecendo de forma rápida desde a década de 60. Ao comparar as pirâmides etárias da Europa com as do Brasil e do Rio Grande do Sul em 1980 e 2000, constata-se a tendência de uma nova estrutura de aspecto quadrangular, com redução no número total de crianças e jovens e um significativo aumento na composição das faixas etárias superiores aos 60 anos (Wong e Carvalho, 2006). Em relação à história da civilização humana, pode-se dizer que o “envelhecimento populacional é um fenômeno recente” e, em termos clínicos, o aumento da expectativa de vida é resultado da compressão das morbidades para o final da vida. A tabela 2 mostra a evolução da expectativa de vida ao nascer no Brasil, desde a década de 40 até 1999, e a tabela 3 mostra a expectativa de vida atual nos estados brasileiros.

Tabela 2 - Expectativa de vida ao nascer no Brasil de 1940 a 1999.

Período	1940	1950	1960	1970	1980	1992	1999
Expectativa de vida (anos)	42,74	45,90	52,37	52,67	60,08	66,3	68,4
Taxa de crescimento (%)	--	7,4%	14,1%	0,5%	14,1%	10,4%	3,2%

Fonte: IBGE, 2000.

Tabela 3 - Expectativa de vida nos estados brasileiros.

Estados	Proporção de Idosos (%)	Taxa Fecundidade (%)	Esperança de vida ao nascer (anos)	Esperança de vida após 65 anos (anos)	
				Homens	Mulheres
Brasil	5,4	2,32	67,58	12,48	15,18
RO	2,7	2,73	67,06	13,04	14,86
AC	3,4	4,27	67,04	12,72	14,74
AM	3,0	3,80	67,65	12,94	15,79
RN	2,4	3,00	66,29	12,51	14,47
PA	3,5	3,86	67,56	12,37	14,91
AP	2,5	4,17	67,85	12,28	14,28
TO	4,1	2,99	67,19	12,38	14,60
MA	4,5	3,83	63,64	12,59	14,10
PI	5,2	2,75	64,42	10,14	12,41
CE	5,8	3,17	65,14	11,42	13,92
RN	6,2	2,35	65,18	11,59	13,62
PR	7,0	2,95	63,16	12,07	13,78
PE	5,9	2,39	62,41	11,89	13,01
AL	4,7	3,15	61,89	11,17	12,88
SE	4,9	2,84	65,99	12,41	14,16
BH	5,2	2,62	66,47	12,84	14,85
MG	5,6	1,99	69,27	12,93	15,73
ES	5,0	2,29	69,22	13,08	16,00
RJ	6,7	1,86	66,97	12,09	15,81
SP	5,5	2,03	69,39	12,87	16,11
PN	5,0	2,30	69,23	12,42	15,20
SC	4,9	2,14	70,50	12,63	15,85
RS	6,5	2,08	70,84	12,66	16,49
MS	4,4	2,50	69,26	13,30	15,32
MT	3,1	2,45	68,01	12,82	14,50
GO	4,1	2,12	68,60	12,72	14,84
DF	2,8	1,93	68,38	12,18	15,31

Fonte: IBGE, 2000.

Como pode ser observado na tabela 3, o RS tem a maior expectativa de vida do Brasil. Este fato pode ser influenciado por questões genéticas e por sua similaridade sócio-econômica com países desenvolvidos. Contudo, dos 10.187.798 habitantes do RS no ano de 2000, 3.718.778 residiam na região metropolitana da Grande Porto Alegre (DATASUS, 2000). Uma característica da região metropolitana da Grande Porto Alegre é a grande diversidade étnica que gera um enorme *pool* gênico sem nenhum isolamento étnico significativo. Estudar genes que contribuem para o aumento da expectativa de vida em regiões metropolitanas do RS é importante para consolidar o entendimento da participação dos mesmos sobre o tempo de vida médio dos seres humanos. Genes do sistema serotoninérgico são importantes candidatos a estudos desta natureza, pois estão relacionados a algumas doenças psiquiátricas que podem encurtar o tempo de vida.

2.4. Genética da Longevidade

Com os avanços das descobertas do genoma humano, muitos estudos apontam polimorfismos genéticos associados a diversas morbidades. Estes estudos buscam identificar grupos de risco dentro da população, com a perspectiva do desenvolvimento de ações preventivas, orientações e estratégias para minimizar os riscos da doença (Estivill, 2007). Entretanto, não há como medir o quanto um polimorfismo está relacionado com a suscetibilidade a patologias que influenciam na longevidade, pois existem fatores intervenientes que alteram tal associação conforme a população e a etnia (Cruz, 2003). O presente estudo baseia-se no referencial que subsidia as teorias do envelhecimento genéticas do desenvolvimento, que considera o envelhecimento como um fenômeno intrinsecamente determinado e modulado por fatores extrínsecos, em especial a teoria do antagonismo pleotrópico.

O envelhecimento é um processo multifatorial, onde a ação gênica ocupa uma parcela considerável de aproximadamente 30% (Cruz, 2003). Os genes aumentam a capacidade fisiológica ou reserva orgânica e, indiretamente, podem aumentar a longevidade. Contudo, mesmo havendo genes que possibilitem uma maior longevidade, esta é altamente influenciada por fatores ambientais (Sorkin, 2005). Fatores como tabagismo, consumo de álcool, hábito alimentar e atividade física podem diminuir ou aumentar as chances do aparecimento de doenças relacionadas à idade. A figura 1 resume os fatores determinantes do processo de envelhecimento.



Figura 1 - Fatores determinantes do processo de envelhecimento.

Fonte: Schwanke, 2003

Se, por um lado, a expectativa de vida está aumentando, por outro lado, as pessoas que vivem mais, ficam mais predispostas às doenças crônico-degenerativas, que, não por acaso, são a maior causa de morte no RS. Através dos avanços da biologia molecular, está sendo possível o mapeamento do genoma humano. Os polimorfismos que afetam proteínas de rotas específicas, interagindo com o ambiente e com outros polimorfismos, podem levar ao aumento da longevidade ou à suscetibilidade para o desenvolvimento de doenças crônico-degenerativas (Christensen e Vaupel, 1996).

2.5. Serotonina

A serotonina pertence à família das monoaminas, que inclui também a epinefrina, a norepinefrina e a dopamina (Hoyer, 1994). A 5-HT possui diversos papéis fisiológicos, destacando-se o de neurotransmissão, modulação da liberação de outros neurotransmissores e hormônios (incluindo acetilcolina, adrenalina, dopamina, aminoácidos excitatórios e vasopressina), regulação da contração da musculatura lisa e regulação da função plaquetária (Aghajanian, 2005). A serotonina é sintetizada a partir do aminoácido essencial triptofano, cuja principal fonte é a dieta, que inclui grãos, carne e laticínios. Como neurotransmissor, a serotonina está envolvida em uma ampla variedade de aspectos como a regulação do sono, cognição, percepção sensorial, atividade motora, regulação da temperatura corporal, percepção da dor, regulação do apetite, comportamento sexual e secreção hormonal (Jacobs, 2004).

A serotonina possui ação vaso constritora, mas a resposta local dos vasos arteriais à serotonina também pode ser inibitória, resultando na liberação do fator de relaxamento derivado do endotélio (EDRF), de prostaglandinas e do bloqueio da liberação de noraepinefrina dos nervos simpáticos (Schwanke, 2003).

As células enterocromafins da mucosa gastrointestinal são o sítio de síntese e armazenamento da maior parte da serotonina produzida no corpo. A liberação basal da serotonina entérica é aumentada pelo mecanismo de estiramento, como o causado pela alimentação e administração de salina hipertônica, e também devido à estimulação vagal eferente. A serotonina liberada a partir destas células entra na

corrente sangüínea através da veia porta e é metabolizada pela enzima monoamino oxidase. A serotonina é liberada pela estimulação mecânica e vagal, agindo também localmente na regulação da função gastrointestinal. A contração da musculatura lisa gástrica e intestinal pode ser tanto aumentada quanto inibida (Oezdener, 2005).

Via de regra, a ação da serotonina é mediada por receptores desta molécula presentes nos tecidos e órgãos alvos, enquanto que a modulação da serotonina liberada é mediada por um transportador. Após a serotonina ser liberada, seu transportador que se encontra localizado na membrana externa dos terminais dos axônios serotoninérgicos e na membrana externa das plaquetas, remove a serotonina de volta para os axônios e plaquetas (Schwanke, 2003).

Estudos recentes revelaram que há quatro famílias estruturais e funcionais de receptores da serotonina, sendo elas: (1) 5-HT₁, (2) 5-HT₂, (3) 5-HT₄ a 7, (4) 5-HT₃. Nas primeiras três famílias, os receptores são ligados à proteína G e, na última, os receptores são ligantes dos canais dos íons Na⁺ e K⁺. No sistema nervoso central, a ativação do receptor 5-HT_{2A}, que é pós-sináptico, produz a estimulação da fosfolipase C e a hidrólise dos fosfoinosítidos de membrana, com a formação dos segundos mensageiros inositol trifosfato e diacilglicerol. Assim, o seu efeito fisiológico é a diminuição da condução de K⁺ e a lentificação da despolarização. Quando o receptor 5-HT_{2A} é bloqueado, a hiperpolarização é aumentada. Na periferia, a ativação deste receptor ocasiona contração vascular do músculo liso, agregação plaquetária e aumento da permeabilidade capilar (Marafon, 2003). Existem nove polimorfismos descritos no gene 5-HT_{2A}, entre eles está o polimorfismo T102C (Sanders-Bush, 2003).

2.6. O Polimorfismo T102C do Gene 5-HT2A

O gene do receptor 5-HT2A encontra-se localizado no cromossomo 13 na posição 14-21 do braço longo (13q14-21), apresentando três exons com cerca de 20 kb. Este gene apresenta um polimorfismo na posição 102 do gene (polimorfismo T102C), onde ocorre a troca de uma timina por uma citosina. Este polimorfismo foi descrito por Warren em 1993. O sítio da mutação pontual T102C do gene 5-HT2A encontra-se exibido na figura 2. O alelo T é considerado sendo o selvagem, entretanto, evidências de que os chimpanzés são portadores do genótipo CC fazem acreditar que o verdadeiro alelo selvagem pode ser o C (Abdolmaleky, 2004). Contudo a maioria dos estudos feitos sobre este polimorfismo ainda o descreve como T102C.

1 gaattcgggt gagccagctc cgggagaaca gcatgtacac cagcctcagt gttacagagt
 61 gtgggtacat caaggtgaat ggtgagcaga aactataacc tgtagtcct tctacacctc
 121 atctgctaca agttctggct tagacatgga tattctttgt gaagaaaata ctctttgag
 181 ctcaactacg aactccctaa tgcaattaa tgatgacacc aggctctaca gtaatgactt
 241 taactctgga gaagctaaca ctctgatgc atttaactgg acagtcgact ctgaaaatcg
 301 aaccaacctt tctgtgaag ggtgcctctc accgtcgtgt ctctcctac ttcattcca
 361 ggaaaaaac tggctgctt tactgacagc cgtagtgatt attctaacta ttgggtgaaa
 421 catactcgtc atcatggcag tgtccctaga gaaaaagctg cagaatgcca ccaactattt
 481 cctgatgca gttgcatag ctgatatgct gctgggttc ctgtcatgc ccgtgtccat
 541 gttaaccatc ctgtatgggt accggtggcc tctgccgagc aagctttgtg cagtctggat
 601 ttacctggac gtgctcttct ccacggctc catcatgcac ctctgcgcca tctcgtgga
 661 ccgctacgct gccatccaga atcccatcca ccacagccgc ttcaactcca gaactaaggc
 721 atttctgaaa atcattgctg tttggacat atcagtaggt atatccatgc caataccagt
 781 ctttgggcta caggacgatt cgaaggtctt taaggagggg agttgcttac tcgccgatga
 841 taactttgtc ctgatcggct cttttgtgc attttcatt ccctaacca tcatggtgat

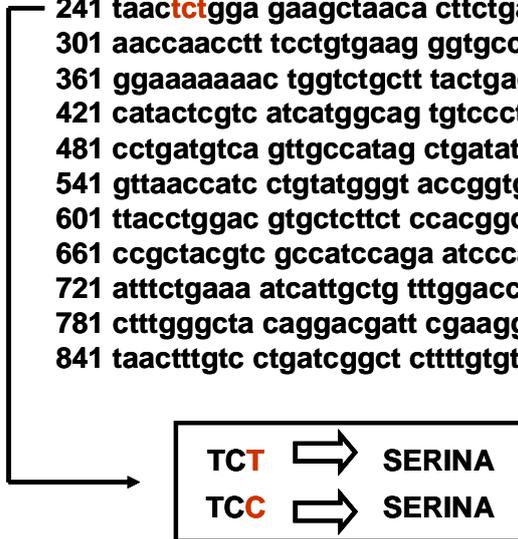


Figura 2 - Sítio da mutação de ponto T102C do gene 5-HT2A.

Fonte: Schwanke, 2003

Estudos encontrados literatura mostram a associação entre o polimorfismo genético T102C do gene 5-HT2A e várias doenças psiquiátricas. A tabela 4 sintetiza algumas associações descritas.

Tabela 4 - Síntese das patologias e comportamentos relacionados ao polimorfismo T102C do gene 5-HT2A.

Patologia/Comportamento	Associação alelo/genótipo	Publicação
		Inayama et al. 1996
Esquizofrenia	C	Tay et al. 1997
		Williams et al. 1996
		Erdmann et al. 1996
Resposta efetiva a Clozapina	TT	Arranz et al. 1995
Alzheimer	C	Holmes et al. 1998
Sintomas psicóticos na doença de Alzheimer familiar e esporádica	C	Nacmias et al. 2001
Transtorno déficit de atenção hiper atividade	C	Li et al. 2002
Depressão maior	T	Zhang et al. 1997
Distúrbio de humor	CC	Tsai et al. 1999
Depressão sazonal	C	Arias et al. 2001
Suicídio	C	Geijer et al. 2000
Alcoolismo	C	Hwu e Chen, 2000
Ingestão de carne vermelha	TT	Prado-Lima et al. 2006
Impulsividade	CC	Bjork et al. 2002
Tabagismo	C	Prado-Lima et al. 2004
Isquemia	T	Olesen et al. 2006
Infarto agudo do miocárdio	TT	Yamada et al. 2000
Baixos níveis de HDL	CC	Jin-Ho et al. 2005
Hipertensão essencial	C	Liolitsa et al. 2001

Fonte: Abdolmaleky, 2004 e Schwanke, 2003

Todas as patologias e comportamentos mencionados na tabela 4 possuem um alto grau de herdabilidade (Saddock, 2002). Uma investigação a partir de análises *post mortem* dos níveis de mRNA do gene 5-HT_{2A} no córtex cerebral mostrou que o polimorfismo T102C do gene 5-HT_{2A} está relacionado com a quantidade destes receptores na membrana celular em seres humanos. No caso, indivíduos portadores do genótipo CC apresentaram níveis de mRNA e da proteína 5-HT_{2A} menores que os indivíduos portadores do genótipo TT. Os autores comentam que houve uma diminuição de 20% na expressão do receptor 2A nos indivíduos portadores dos genótipos CC em relação aos portadores do genótipo TT. Esta diminuição foi encontrada tanto em indivíduos normais quanto em esquizofrênicos, e foi independente da idade e do gênero. Contudo, homens apresentaram níveis de mRNA do gene 5-HT_{2A} menores que mulheres em todos genótipos (Polesskaya, 2002).

Muitos estudos têm demonstrado que existe um forte fator genético sobre a incidência de doenças de origem cardiovasculares. A serotonina pertence à família das substâncias vaso-constritoras, que na maioria dos casos, são responsáveis por disfunção endotelial (Irigoyen, 2002). Assim, o provável papel do receptor 5-HT_{2A} nas doenças cardiovasculares pode ser através da vasoconstrição da musculatura lisa vascular e da regulação da agregação plaquetária.

Outros estudos associam o polimorfismo T102C a diversas disfunções e comportamentos. Se por um lado o genótipo TT e a presença de um único alelo T são relacionados a problemas cardiovasculares como infarto agudo do miocárdio e isquemia, além de maior ingestão de carne vermelha, que é considerado fator de

risco para doenças cardiovasculares, por outro lado, o genótipo CC e a presença de um único alelo C são relacionados a doenças psiquiátricas e comportamentos de risco, como esquizofrenia, impulsividade, tabagismo, distúrbios de humor, alcoolismo, suicídio, transtorno déficit de atenção, hiper atividade e sintomas psicóticos em pacientes com Alzheimer. Estas associações levam a questionar se o polimorfismo T102C do gene 5-HT2A influencia o tempo de vida médio da população do RS por ser um potencial preditor de mortalidade.

3. Objetivos

3.1. Geral

- Analisar a distribuição do polimorfismo T102C do gene 5-HT2A em diferentes faixas etárias.

3.2. Específicos

- Descrever as frequências alélicas do polimorfismo T102C do gene 5-HT2A.
- Descrever as frequências genotípicas do polimorfismo T102C do gene 5-HT2A.
- Analisar a distribuição do polimorfismo T102C do gene 5-HT2A em relação ao gênero.

4. Referências da Revisão da Literatura

1. ABDOLMALEKY, H. M., Faraone, S.V., Glatt, S.J., Tsuang, M.T. Meta-analysis of association between the T102C polymorphism of the 5HT2a receptor gene and schizophrenia. ***Schizophrenia Research***, vol. 67, p. 53-62, 2004.
2. AGHAJANIAM, G.K., Sanders-Bush, E. ***Serotonin Neuropsychopharmacology: The Fifth Generation of Progress***. Disponível em: <http://www.acnp.org/Docs/G5/CH2_15-34.pdf>. Acesso em: 02 fev. 2008.
3. ALVES-SILVA, J., Santos, M.S., Guimaraes, P.E.M., Ferreira, A.C.S., Bandelt, H.J., Pena, S.D.J., Prado, V.F. The ancestry of Brazilian mtDNA lineages. ***American Journal of Human Genetics***, vol. 67, p. 444-461, 2000.
4. ARIAS, B., Gutierrez, B., Pintor, L., Gasto, C., Fananas, L. Variability in the 5-HT(2A) receptor gene is associated with seasonal pattern in major depression. ***Molecular Psychiatry***, vol. 6, p. 239-242, 2001.
5. ARRANZ, M., Collier, D., Sodhi, M., Ball, D., Roberts, G., Price, J., Sham, P., Kerwin, R. Association between clozapine response and allelic variation in 5-HT2A receptor gene. ***Lancet***, vol. 346, p. 281-282, 1995.

6. BJORK, J.M., Moeller, F. G., Dougherty, D. M., Swann, A. C., Machado, M. A., Hanis, C. L. Serotonin 2a receptor T102C polymorphism and impaired impulse control. ***American Journal of Medical Genetics***, vol. 114, n. 3, p. 336-339, 2002.
7. CAMARANO, A.I. Envelhecimento Da População Brasileira: Uma Contribuição demográfica. Instituto de Pesquisa Econômica Aplicada. Disponível em: <http://www.ipea.gov.br/pub/td/2002/td_0858.pdf> Acesso: 02 fev. 2008.
8. CARVALHO, J.A.M., Garcia, R.A. The aging process in the brazilian population: A demographic approach. ***Cadernos de Saúde Pública***, vol. 19, n. 3, p. 725-733, 2003.
9. CHAIMOWIC, F. A saúde dos idosos brasileiros às vésperas do século XXI: problemas, projeções e alternativas. ***Revista de Saúde Pública***, vol. 31 n. 2, pag. 184-200, 1997.
10. CHRISTENSEN, K., Vaupel, J.W. Determinants of longevity: genetic, environmental and medical factors. ***Journal of Internal Medicine***, vol. 240, p. 333-341, 1996.
11. CRUZ, I.B.M., Oliveira, G., Taufer, M., Leal, N.F., Schwanke, C.H., Glock, L., Moriguchi, Y., Moriguchi, E.H. Angiotensin I-converting enzyme gene

- polymorphism in two ethnic groups living in Brazil's southern region: association with age. *The Journals of Gerontology Series A: Biological Sciences and Medical Sciences*, vol. 58, p. 851-856, 2003.
12. CRUZ, I. B. M., Alho, C. S. Envelhecimento populacional: panorama epidemiológico e de saúde do Brasil e do Rio Grande do Sul. In: Jeckel Neto, E., Cruz, I. B. M. **Aspectos Biológicos e Geriátricos do Envelhecimento II**. Porto Alegre: EDIPUCRS, 2000. 175-191 p.
 13. CRUZ, I. B. M. Genética do Envelhecimento, da Longevidade e Doenças Crônico-Degenerativas Associadas à Idade. In: Freitas, E. V., Rocha, S. M. **Tratado de Geriatria e Gerontologia** Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002. 20-31 p.
 14. Cruz, I.B.M., Moriguchi, E.H. **Projeto Veranópolis: Reflexões sobre envelhecimento bem sucedido**. Porto Alegre: Oficina da Longevidade, 2002. 138 p.
 15. CUTLER, R. Evolution of Human longevity: A critical overview. **Mechanism of Ageing and Development**, vol. 9, p. 337, 1979.
 16. DATASUS. População residente na região metropolitana da Grande Porto Alegre, 2000. Disponível em:

- <<http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/tabcgi.exe?ibge/cnv/poprs.def>> Acesso em: 16 nov. 2007.
17. DEBOMOY, K.L., Nurnberger, J.J.I. A rapid non-enzymatic method for the preparation of HMW DNA from blood for RFLP studies. ***Nucleic Acids Research***, vol.19, n. 19, p. 5444, 1991.
 18. ERDMANN, J., Shimron, A.D., Rietschel, M., Albus, M., Maier, W., Korner, J., Bondy, B., Chen, K., Shih, J.C., Knapp, M., Propping, P., Nöthen, M.M. Systematic screening for mutations in the human serotonin-2A (5-HT2A) receptor gene: identification of two naturally occurring receptor variants and association analysis in schizophrenia. ***Human Genetics***, vol. 97, p. 614-619, 1996.
 19. Estado, A. A pensionista mais velha do INSS. ***Zero Hora***. Publicado em: 16 out. 2007. p. 4-5.
 20. ESTIVILL, X., Armengol, L. Copy number variants and common disorders: filling the gaps and exploring complexity in genome-wide association studies. ***PLOS Genetics***, vol. 3, n. 10, p.1787-1799, 2007.
 21. FARINATTI, P.T.V. Teorias biológicas do envelhecimento: do genético ao estocástico. ***Revista Brasileira de Medicina do Esporte***, vol. 8, n. 4, p. 129-

138, 2002.

22. FINCH, C.E., Stanford, C. B. Meat adaptative genes and the evolution of slower aging in humans. ***Quarterly Review of Biology***, vol. 79, n. 1, p. 4-50, 2004.
23. GEIJER, T., Frisch, A., Persson, M.L., Wassermann, D., Rockah, R., Michaelovsky, E., Apter, A. Search for association between suicide attempt and serotonergic polymorphisms. ***Psychiatry Genetics***, vol. 10, pag. 19-26, 2000.
24. GOLDSMITH, T. ***The Evolution of Aging***, 2006. Disponível em: http://www.azinet.com/aging/Aging_Book.html Acesso em: 21 jan. 2007.
25. HALLEY, E. Estimate of the degrees of the mortality of mankind. ***The Philosophical Transactions of the Royal Society***, 1693.
26. HAYFLICK, L. ***Como e Porque Envelhecemos?*** São Paulo: Editora Campus, 1996. 366 p.
27. HOLMES, Arranz, M.J., Powell, J.F., Collier, D.A., Lovestone, S. 5-HT_{2A} and 5-HT_{2C} receptor polymorphisms and psychopathology in late onset Alzheimer's disease. ***Human Molecular Genetics***, vol. 7 n. 9, p. 1507-1509,

1998.

28. HOYER, D., Clarke, D.E., Fozard, J.R., Hartig, P.R., Martin, G.R., Mylecharane, E.J., Saxena, P.R., Humphrey, P.P.A. VII. International union of pharmacology classification of receptors for 5-Hydroxytryptamine (Serotonin). ***Pharmacological Reviews***, vol. 46, n. 2, p. 157-203, 1994.
29. HWU, H.G., Chen, C.H. Association of 5-HT_{2A} receptor gene polymorphism and alcohol abuse with behavior problems. ***American Journal of Medical Genetics***, vol. 96, p. 797-800, 2000.
30. IBGE. ***Perfil dos idosos responsáveis pelos domicílios no Brasil***, 2000.
Disponível em:
<<http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/populacao/perfilidoso/perfidosos2000.pdf>> Acesso em: 07 mar. 2007.
31. INAYAMA, Y., Yoneda, H., Sakai, T., Ishida, T., Nonomura, Y., Kono, Y. Positive association between a DNA sequence variant in the serotonin 2A receptor gene and schizophrenia. ***American Journal of Medical Genetics***, vol. 67, p. 103-105, 1996.
32. IRIGOYEN, M.C.M., Oliveira, A.R., D'Ávila, K.A.L., Fiorino, P., Dall'Ago, P., Lacchini, S. Alterações funcionais do sistema cardiovascular durante o

- envelhecimento. In: Jeckel-Neto, E.A., Cruz, I.B.M. **Aspectos Biológicos e geriátricos do envelhecimento**. Porto Alegre: EDIPUCRS, 2000, p. 337-370.
33. JACOBS, B.L., Fornal, C. A. Serotonin and behavior: A general hypothesis. **Psychopharmacology - The Fourth Generation of Progress**. Disponível em: <<http://www.acnp.org/g4/GN401000044/CH044.html>> Acesso em: 11 jul. 2007.
34. JIN-HO, C., Shu-Ying, Z., Kyung-Woo, P., Young-Seok, C., Byung-Hee, O., Myoung-Mook, L., Young-Bae, P., Hyo-Soo, K. The association between the T102C polymorphism of the HTR2A serotonin receptor gene and HDL cholesterol level in koreans. **Journal of Biochemistry and Molecular Biology**, vol. 38, n. 2, p. 238-242, 2005.
35. KIRKLAND, J.L. The biology of senescence: potential for prevention of disease. **Clinics in Geriatric Medicine**, vol. 18, n. 3, p. 383-405, 2002.
36. LI, J., Wang, Y., Qian, Q., Wang, B., Zhou, R. Association of 5-HT(2A) receptor polymorphism and attention deficit hyperactivity disorder in children. **Zhonghua Yi Xue Za Zhi**, vol. 82, n. 17, p. 1173-1176, 2002.
37. LIOLITSA, D., Powell, J.F., Prince, M., Lovestone, S. Association study of the 5-HT2A receptor gene polymorphism, T102C and essential hypertension.

- Journal of Human Hypertension*, vol. 15, n. 5, p. 335-339, 2001.
38. LITTLE, J., Bradley, L., Bray, M., Clyne, M., Dorman, J., Darre, I. L. Reporting appraising and integrating data on genotype prevalence and gene–disease associations. *American Journal of Epidemiology*, vol. 156, p. 300-310, 2002.
 39. MARAFON, L.P., Cruz, I.B.M., Schwanke, C.H.A., Moriguchi, E.H. Preditores cardiovasculares da mortalidade em idosos longevos. *Cadernos de Saúde Pública*, vol. 19, n. 2, p. 799-807, 2003.
 40. MARTIN, G.M., Bergman, A., Barzilai, N. Genetic determinants of human health span and life span: progress and new opportunities. *PLOS Genetics*, vol. 3, n. 7, p. 1121-1130, 2007.
 41. OEZDENER, F., Guelbas, Z., Erol, K., Ozdemir, V. 5-Hydroxytryptamine-2A receptor gene (HTR2A) candidate polymorphism (T102C): Role for human platelet function under pharmacological challenge ex vivo. *Methods & Findings in Experimental and Clinical Pharmacology*, vol. 27, n. 6, p. 395, 2005.
 42. OLESEN, O.F., Bennike, B., Dam, H., Mellerup, E. Association of the 5-HT2A receptor gene polymorphism 102 T/C with ischemic stroke, *Journal of*

- Molecular Neuroscience*, vol. 30, n. 3, p. 323-328, 2006.
43. ORGANIZAÇÃO DAS NAÇÕES UNIDAS - ONU. **Assembléia Mundial sobre envelhecimento**: resolução 39/125. Viena: 1982.
 44. PARRA, F.C., Amado, R.C., Lambertucci, J.R., Rocha, J., Antunes, C.M., Pena, S.D. Color and genomic ancestry in Brazilians. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, vol.100, p. 177- 182, 2003.
 45. POLESSKAYA, O.O., Sokolov, B.P. Differential expression of the “C” and “T” alleles of the 5-HT2A receptor gene in the temporal cortex of normal individuals and schizophrenics. **Journal of Neuroscience Research**, vol 67, p. 8, 2002.
 46. PRADO-LIMA, P.A.S., Cruz, I.B.M., Schwanke, C.H.A., Netto, C.A., Licinio, J. Human food preferences are associated with a 5-HT2A serotonergic receptor polymorphism. **Molecular Psychiatry**, vol. 11, p. 888-891, 2006.
 47. PRADO-LIMA, P.A.S., Chatkin, J.M., Taufer, M., Oliveira, G., Silveira, E., Neto, C.A., Haggstram, F., Bodanese, L.C., Cruz, I.B.M. Polymorphism of 5HT2A serotonin receptor gene is implicated in smoking addiction. **American Journal of Medical Genetics Part B Neuropsychiatry Genetics**, vol. 128, n. 1, p. 90-

- 93, 2004.
48. RUBNER, M. Das Problem der Lebensdauer und seine Beziehungen zum Wachstum und Ernährung. Munich Oldenburg, 1908.
 49. SADDOCK, B., Saddock, V. Kaplan & Sadock's ***Comprehensive Textbook of Psychiatry***. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2005. 4480 p.
 50. SANDERS-BUSH, E., Fentress, B., Hazelwood, L. Serotonin 5-HT₂ receptors: molecular and genomic diversity. ***Molecular Interventions***, vol. 3, p. 319-330, 2003.
 51. SCHWANKE, C.H.A. ***Associação do polimorfismo genético do receptor 2A da serotonina (5-HT_{2A}) com indicadores de saúde geriátrica***. Tese (Doutorado) – Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul. Faculdade de Medicina. Programa de Pós-Graduação em Gerontologia Biomédica, 2003.
 52. SILVESTRE, J.A., Kalache, A., Ramos, L.R., Veras, R.P. O envelhecimento populacional brasileiro e o setor saúde. ***Arquivos de Geriatria e Gerontologia***, vol. 0, p. 81-89, 1996.
 53. SORKIN, J., Post, W., Pollin, T.I., O'Connell, J.R., Mitchell, B.D., Shuldiner,

- A.R. Exploring the genetics of longevity in the old order Amish. ***Mechanisms of Ageing and Development***, vol. 126, p. 347-350, 2005.
54. STESSMAN, J., Maaravi, Y., Hammerman-Rozenberg, R., Cohen, A., Nemanov, L., Gritsenko, I., Gruberman, N., Ebstein, R. P. Candidate genes associated with ageing and life expectancy in the Jerusalem longitudinal study. ***Mechanism of Ageing and Development***, vol. 126, p. 333-339, 2005.
55. TAY, A.H., Lim, L.C., Lee, W.L., Wong, K.E., Wong, L.Y., Tsoi, W.F. Association between allele 1 of T102C polymorphism, 5-hydroxytryptamine 2a receptor gene and schizophrenia in chinese males in Singapore. ***Human Heredity***, vol. 47, p. 298-300, 1997.
56. TROEN, B.R. The biology of aging. ***The Mount Sinai Journal of Medicine***, vol. 70, n. 1, p. 03-22, 2003.
57. TSAI, S.J., Hong, C.J., Hsu, C.C., Cheng, C.Y., Liao, W.Y., Song, H.L., Lai, H.C. Serotonin-2A receptor polymorphism (102 T/C) in mood disorders. ***Psychiatry Research***, vol. 87, p. 233-237, 1999.
58. WACHOULDER, S., Rothman, N., Caporaso, N. Population stratification in epidemiologic studies of common genetic variants and cancer: quantification of bias. ***Journal of the National Cancer Institute***, vol. 92, p. 1151-1158, 2000.

59. WARREN, J.T.J., Peacock, M.L., Rodriguez, L.C., Fink, J.K. An MspI polymorphism in the human serotonin receptor gene (HTR2): Detection by DGGE and RFLP analysis. **Human Molecular Genetics**, vol. 2, p. 338, 1993.
60. WILLIAMS, J., Spurlock, G., McGuffin, P., Mallet, J., Nothen, M.M., Gill, M. Association between schizophrenia and T102C polymorphism of the 5-hydroxytryptamine type 2a-receptor gene. **Lancet**, vol. 347, p. 1294-1296, 1996.
61. WONG, R., Carvalho, J.A. O rápido processo de envelhecimento populacional do Brasil: sérios desafios para as políticas públicas. **Revista Brasileira de Estudos de População**, vol. 23, n. 1, p. 5-26, 2006.
62. YAMADA, S., Akita, H., Kanazawa, K., Ishida, T., Hirata, K., Ito, K., Kawashima, S., Yokoyama, M. T102C polymorphism of the serotonin (5-HT) 2A receptor gene in patients with non-fatal acute myocardial infarction. **Atherosclerosis**, vol. 150, n.1, p.143-148, 2000.
63. ZHANG, H.Y., Ishigaki, T., Tani, K., Chen, K., Shih, J.C., Miyasato, K., Ohara, K. Serotonin 2A receptor gene polymorphism in mood disorders. **Biological Psychiatry**, vol. 41, p. 768-773, 1997.

**5. Article submitted to Brazilian Journal of Medical and Biological
Research**

**Is there an association between T102C polymorphism of serotonin
receptor 2A and mean life span in human beings?**

Paulo Fernandes Costa Jobim¹, Pedro Antonio Schmidt do Prado-Lima²,
Carla Helena Augustin Schwanke³, Roberto Giugliani⁴, Ivana Beatrice
Manica da Cruz⁵

¹ Postgraduation Program in Medical Sciences, School of Medicine, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Brazil

² Biomedical Research Institute, Hospital São Lucas, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Brazil

³ Department of Morphophysiological Sciences, School of Biosciences, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Brazil

⁴ Medical Genetics Service, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Brazil

⁵ Department of Morphology, Center of Health Sciences, Universidade Federal de Santa Maria, Brazil

Corresponding Author:

Paulo Fernandes Costa Jobim
Rua Professor Antônio José Remião, 15/17
Porto Alegre – Brazil
91770-670
+55-51-33927360
Email: pjobim@uol.com.br

ABSTRACT

Epidemiological investigations suggest that T102C polymorphism of gene 5-HT2A may be associated to mean life span because diseases and behaviors related to this polymorphism, such as schizophrenia, suicide, aggression, and addiction, may potentially shorten mean life span. A sample of 687 individuals was genotyped and categorized according to their respective age and gender. Significant differences were found between the distribution of genotypes of T102C polymorphism of gene 5-HT2A and the mean age of the sample ($p=0.026$) as well as the age groups ($p=0.012$). The present results strengthen the possibility that T102C polymorphism of gene 5-HT2A may play a role in mean life span of human beings.

KEY WORDS: Mean life span; serotonin; receptor 2A; T102C polymorphism; aging.

Introduction

The theory of antagonist pleiotropic gene suggests that evolutive pressure has selected mutations that benefit survival in pre-reproductive ages, increasing reproductive success, even if these mutations could bring adverse consequences in post-reproductive stages and old age (1). Based on the hypothesis that most biological routes have been preserved by evolution (2), studies related to mean life span or life expectancy may be important for the understanding of the aging process and longevity. In fact, progresses in studies of the genome have indicated that genetic polymorphisms contribute to mean life span (3), since more than 25% of variations in mean longevity in humans is hereditary (4).

A hypothesis suggested by Stanford and Finch has proposed the fixation of adaptative genes to meat consumption in the human genome throughout evolution, where such genes would be related to lifetime. The authors argue that meat consumption may have played an important role during human evolution, extending the lifetime of the species. The role of the adaptative genes to meat consumption would be to reduce the harmful effects of meat ingestion, such as cholesterol increase, which is a risk factor for Alzheimer and vascular diseases, besides reducing the risk of infections. Ancestors of human beings were hunters and scavengers who needed to pass on the knowledge of these activities to the next generations, thus increasing post-reproductive lifetime; it was in the period of childhood and adolescence that individuals developed enough skills to hunt. This cycle had as consequence the reproductive success of the species (5).

Genes related to reproductive success via food preference may also be related to the increase in mean life span. A study conducted by Prado-Lima et al. (2006) showed that genotype TT of T102C polymorphism of gene 5-HT2A is related to a preference for meat ingestion (6). Another study conducted by Herberth et al. (2005) found an association between polymorphism 1438G/A of gene 5-HT2A and fat consumption in young individuals. The authors stress the idea that these results may help explain the role of the serotonergic system in eating behavior (7).

Many epidemiological investigations describe the possible association between genotype CC of polymorphism of gene 5-HT2A and neuropsychiatric diseases, such as schizophrenia, psychotic symptoms in Alzheimer's patients, attention deficit and hyperactivity disorder, suicide, as well as addiction to tobacco (8-10). On the other hand, many other studies show a positive association between genotype TT of T102C polymorphism of gene 5-HT2A and acute myocardial infarction, stroke, high blood pressure, and increased platelet aggregation in healthy adults (11-14). Based on these biological characteristics and studies that demonstrate associations between T102C polymorphism of gene 5-HT2A and eating preference, addiction, and chronic diseases related to alleles T and C, we asked whether this polymorphism could be associated to mean life span in human beings.

Methodology

This was an observational cross-sectional study and the estimate of gene-diseases as proposed by Little et al. (2002) (15). The sample was composed of 687 individuals from the following two sources: 267 individuals came from an epidemiological study on aging conducted in Gravataí, a city located in the metropolitan area of the Greater Porto Alegre, Brazil, and 420 individuals came from a health SPA in Gramado, a city located close to the metropolitan area of the Greater Porto Alegre, Brazil.

Individuals who were first or second degree relatives were excluded from the sample in order to avoid errors in genetical frequencies. Ancestry of the south region of Brazil counts with great ethnic variation, which is highlighted in major urban areas, such as the metropolitan region of the Greater Porto Alegre, which on its part does not present any significant ethnic isolation (16,17). A study conducted by Cruz et al. (2003) showed that the ethnic composition of the metropolitan region of the Greater Porto Alegre is appropriate for the implementation of epidemiological studies on aging (18). Additionally, we compare the genotypic frequency of T102C polymorphism of 5-HT_{2A} gene between this two sample sources and there is no differences among than. Based on these evidences, we opted for considering the two sources of the sample as being genetically one single population.

T102C polymorphism of gene 5-HT_{2A} was determined by means of extraction of lymphocyte DNA, and genotyping was performed using the technique of polymerase chain reaction (PCR) as described by Warren et al. (1993) (19), with

small modifications made by Tsai et al. (1999) (20). The product of the PCR was digested by restriction enzyme *Hpa II*, separated by electrophoresis, and visualized with ultraviolet light (UV). Allele T appeared without a cut of the restriction enzyme, with a DNA band at 342 pb; however, allele C presented two DNA bands at 216 and 126 pb. Figure 1 shows data on a genotyping of T102C polymorphism of gene 5-HT2A.

Figure 1 *here*

The significance of the genotypic distribution between the different age groups was verified by the chi-square test. In order to compare mean ages of individuals within the three genotypes, ANOVA one-way test was used followed by post hoc Bonferroni's test. Statistical analyses were made using SPSS program version 13.0 (SPSS, Inc, IL).

Results

The highest and lowest ages of the sample were respectively 14 and 100 years. Table 1 shows gender and the genotypic and allelic distribution of the sample. Table 2 shows average ages according to the genotypic categories. It was observed that carriers of genotype TT had a higher mean age when compared to the other two genotypes, and carriers of genotype CC had an intermediate mean age when compared to carriers of genotypes TT and heterozygous TC, whose mean age was

lower (TT vs. TC; $p=0.026$).

Table 1 *here*

Table 2 *here*

Based on these results, we analyzed the differences in genotypic distribution between three age groups categorized to follow the biological-reproductive characteristics of Brazilian individuals as follows: a reproductive age group (14 to 45 years; $n=123$), a post-reproductive age group (46 to 64 years; $n=326$), and an elderly group (65 to 100 years; $n= 238$). Statistical significant differences were found between the three age groups as to genotypic distribution ($p=0.017$). The number of carriers of genotype TT was higher in the elderly group when compared to the reproductive group. The number of carriers of genotype CC was lower in the post-reproductive group when compared to the other two age groups; finally, the number of carriers of genotype TC gradually decreased from the reproductive group to the elderly group (Figure 2). No statistically significant difference was found between gender and the distribution of individuals' genotypes.

Figure 2 *here*

Discussion

In the present paper we analyzed the possible association between polymorphism T102C of gene 5-HT2A and mean human life span. Statistically significant differences were found between genic distribution and age. There also seems a decrease of genotype CC at post-reproductive ages, since the number of individuals with this genotype seems to decrease in the post-reproductive group but not in the elderly group. On the other hand, the number of carriers of genotype TC seems to decrease as they grow old. Moreover, we found that the mean age of carriers of genotype TT was significantly higher than the mean age of carriers of genotype TC.

The interpretation of the results obtained herein was made from a biological-evolutionary standpoint; as a result, four main questions arise: First, considering the nullity of the migration effect, consanguineous matings, and mutation rates in the sample, why is a decrease in the number of carriers of genotype CC taking place only in the post-reproductive group? Second, why does the number of genotype TC carriers gradually decrease from the reproductive group to the elderly group? Third, why, as opposite to carriers of genotype TC, do carriers of genotype TT apparently live longer when compared to carriers of the other genotypes? And fourth, may gene 5-HT2A be considered a candidate to corroborate with the hypothesis of adaptative genes to meat consumption, as proposed by Finch and Stanford (2004), thus being related to mean human life span? These questions are both complex and will hardly be answered by this preliminary investigation; however, we sought to explore some

elements that may contribute to provide biologically feasible answers.

First, it is important to understand the biological role played by serotonin (5-HT). 5-HT is an ancestral molecule that has more recently acted as a neurotransmitter, regulating several brain functions, besides being involved in a broad variety of behaviors, such as fear, sleep, appetite, mood, and sexual behavior. Deficits in the modulation of 5-HT result in many chronic non-communicable diseases, such as cardiovascular diseases and psychiatric disorders (21).

Many lines of evidence suggest that T102C polymorphism of gene 5-HT2A plays an important role in suicide, impulsiveness, and emotional alterations (22). Case-control studies have described a possible association between allele C and neuropsychiatric diseases, although data is still controversial. Bjork et al. (2002) observed that homozygous patients for allele C presented increased suicidal ideation. The authors suggest that T102C polymorphism of gene 5-HT2A may be a marker for psychiatric disorders (23). Another study conducted by Li et al. (2002) studied the association between T102C polymorphism of gene 5-HT2A and Attention Deficit and Hyperactivity Disorder (ADHD); this study suggests that genotype TT has a protecting role and that genotype TC is a risk factor and that allele C would be a predisposing factor for the disease in women with ADHD (24).

A study conducted by Jin-Ho et al. (2005) suggests the association between genotype CC and low HDL levels in Koreans (25). Moreover, Liolitsa et al. (2001) found an increase in the frequency of allele C in individuals with high blood pressure (26). On the other hand, Yamada et al. (2000) suggest that T102C polymorphism of gene 5-HT2A may be a genetic marker for acute myocardial infarction (11). However,

probably the most explored line of research in relation to polymorphism T102C of gene 5-HT2A is schizophrenia since serotonergic metabolism is involved in the etiology of schizophrenia, a disease that affects around 1% of the world population (27). Investigations suggest that schizophrenia has a hereditary characteristic (28), and many studies point to a relation between T102C polymorphism of gene 5-HT2A and this disease (29, 30), as well as for the therapeutic action of clozapine (31).

Unfortunately, there is not much demographic data available on the mortality caused by neuropsychiatric diseases. Based on data published by the database of the Brazilian public health system (32), it can be observed that in the state of Rio Grande do Sul the mortality rate due to behavioral diseases (DIC 10.V), which includes mood disorders, schizophrenia, personality and emotional disorders, among other diseases that are potentially influenced by T102C polymorphism of gene 5-HT2A, is high, especially in the post-reproductive group. This data suggests that the present study is relevant because it is compatible with the mortality rate of Rio Grande do Sul, Brazil. (Figure 3)

Figure 3 *here*

A previous study showed that there is a linear loss of receptor 5-HT2A of around 16% and 18% by decade of life in the hippocampus and prefrontal cortex in human beings (33). The authors state that receptor 5-HT2A decreases dramatically in many brain regions after the age of 50. Polesskaya and Sokolov (2002) developed a method to determine the effect of alleles T and C of T102C polymorphism of gene 5-

HT2A through the expression of mRNA. Using this technique, the authors demonstrated that the expression of allele C is 20% lower when compared to the expression of genotype T (34). Other two studies conducted by Prado-Lima et al. (2006) that used a sample similar to the one used herein found that allele C is more frequent in individuals who smoke (10) and that carriers of genotype TT have a stronger preference for consuming meat when compared to carriers of at least one allele C (6).

At the moment, little is known about genetic polymorphisms associated to mean life span. However, polymorphisms in the serotonergic system change neurometabolic routes, leading to neuropsychiatric diseases and behaviors that potentially lead to death or to conditions that shorten life expectancy.

Some more recent studies strengthen this hypothesis. For instance, the investigation conducted by Gondo et al. (2005) compared centennial and young individuals and suggests the existence of an association between the serotonin transporter gene (5-HTT) and longevity via negative predictors of longevity (35). On the other hand, Stessman et al. (2005) did not find an association between the same polymorphism of 5-HTT and longevity in Jewish individuals who live in Jerusalem (36), which suggests the occurrence of intervenient variables, which may include the interaction between genetical polymorphisms influencing longevity. In the present study, we worked only with the part related to the effect of a single nucleotide polymorphism (SNP); however, it is feasible to categorize environmental influences as negative and positive predictors of mean life span. After all, if there really is a genetical influence on mean life span, it would have as consequence the choice of

making these predictors live or not; if this does happen, perhaps carriers of genotype TC choose more negative predictors when compared to carriers of genotype TT and, consequently, live less.

Our results suggest that T102C polymorphism of gene 5-HT2A is associated with mean life span, and thus this gene becomes a possible candidate to the group of adaptative genes to meat consumption proposed by Stanford and Finch (2004). Nevertheless, further studies should be conducted in order to clarify the relation of genetical polymorphisms and mean life span. The results obtained herein may be considered preliminary and show some limitations. One of the latter may be related to the stratification of the population; however, an analysis made by Wachouder et al. (2000) suggests that the error attributed to the stratification of a population is minimal (37). Another limitation is the fact that the population of the present study is mixed because, although to date no study has been published on the genic frequency of T102C polymorphism of gene 5-HT2A in different ethnic populations, it is possible that ethnically mixed populations may cause bias in the allelic and genotypic frequencies observed.

Mean life span is a complex phenomenon that involves many genetic and environmental factors. Colhoun et al. (2003) state that the inability to replicate many results has led to a continuous skepticism as to the value of the findings of studies of the simple association between a genetic variant and a complex phenotype, as it is the case of mean life span, and they go on suggesting that one of the most important factors which lies behind this inability of reproducing these associations is publication bias, which fails to attribute result alterations and inadequate sample sizes (38).

Finally, we believe that the merit of the present study is mainly to contribute to the understanding of the genetical influence on human life expectation. Based on our results we can conclude that T102C polymorphism of gene 5-HT2A changes mean life span of the population of Rio Grande do Sul, Brazil. Further studies should be conducted in order to strengthen this suggestion.

ACKNOWLEDGEMENTS

We are very thankful to all members of *Programa Gênesis de Pesquisa* for having collaborated with us in the data collection and molecular analysis. We also thank the *Conselho Nacional de Pesquisa* (CNPq) and the *Conselho de Aperfeiçoamento do Ensino Superior* (CAPES) for their financial support.

REFERENCES

1. Martin GM, Bergman A, Barzilai N. Genetic determinants of human health span and life span: progress and new opportunities. *PLoS Genet.* 2007; 3 (7):1121-1130.
2. Browner WS, Kahn AJ, Ziv E, Reiner AP, Oshima J, Cawthon RM, et al. The Genetics of human longevity. *Am J Med.* 2004;117(1):851-860.
3. Toupance B, Godelle B, Gouyon P, Schachter F. A model for antagonistic pleiotropic gene action for mortality and advanced age. *Am J Hum Genet.* 1998; 62:1525–1534.
4. Mitchell BD, Hsueh WC, King TM. Heritability of life span in the old order Amish. *Am J Med Genet.* 2001;102:346 - 352.
5. Finch CE, Stanford CB. Meat adaptative genes and the evolution of slower aging in humans. *Quart Rev Bio.* 2004; 79 (1):4-50.
6. Prado-Lima PAS, Cruz IBM, Schwanke, CHA, Netto, CA, Licinio J. Human food preferences are associated with a 5-HT_{2A} serotonergic receptor polymorphism. *Molec Psych.* 2006; 11:888-891.

7. Herbeth B, Aubry E, Fumeron F, Aubert R, Cailotto F, Siest G, et al. Polymorphism of the 5-HT_{2A} receptor gene and food intakes in children and adolescents: the Stanislas Family Study. *Am J Clin Nut.* 2005; 82 (2):467-470.
8. Anguelova M, Benkelfat C, Turecki G. A systematic review of association studies investigating genes coding for serotonin receptors and the serotonin transporter: II Suicidal behavior. *Mol Psychiatry.* 2003; 8:646-653.
9. Lorenzo CV, Baca-Garcia E, Diaz-Hernandez M, Botillo-Martin C, Perez-Rodriguez M M, Fernandez-Ramos C, et al. Association between the T102C polymorphism of the serotonin-2A receptor gene and schizophrenia. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* 2006; 30 (6):1136-1138.
10. Prado-Lima PAS, Chatkin JM, Taufer M, Oliveira G, Silveira E, Neto CA, et al. Polymorphism of 5HT_{2A} serotonin receptor gene is implicated in smoking addiction. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet.* 2004; 128(1):90-93.
11. Yamada S, Akita H, Kanazawa K, Ishida T, Hirata K, Ito K, et al. T102C polymorphism of the serotonin (5-HT) 2A receptor gene in patients with non-fatal acute myocardial infarction. *Atherosclerosis.* 2000; 150 (1):143-148.
12. Olesen OF, Bennike B, Dam H, Mellerup E. Association of the 5-HT_{2A} receptor gene polymorphism 102 T/C with ischemic stroke. *J Mol Neurosci.*

- 2006; 30(3):323-328.
13. Yamamoto M, Jin JJ, Wu Z, Abe M, Tabara Y, Nagai T, et al. Interaction between Serotonin 2A receptor and Endothelin-1 variants in association with hypertension in Japanese. *Hypertens Res.* 2006; 9(4):227-232.
 14. Oezdener F, Guelbas Z, Erol K, Ozdemir V. 5-Hydroxytryptamine-2A receptor gene (HTR2A) candidate polymorphism (T102C): Role for human platelet function under pharmacological challenge ex viv. *Methods Find Exp Clin Pharmacol.* 2005; 27(6):395.
 15. Little J, Bradley L, Bray M, Clyne M, Dorman J, Darre I L. Reporting appraising and integrating data on genotype prevalence and gene–disease associations. *Am J Epidemiol.* 2002; 156:300-310.
 16. Alves-Silva J, Santos MS, Guimaraes PEM, Ferreira ACS, Bandelt HJ, Pena SDJ, et al. The ancestry of Brazilian mtDNA lineages. *Am J Hum Genet.* 2000; 67:444-461.
 17. Parra FC, Amado RC, Lambertucci JR, Rocha J, Antunes CM, Pena SD. Color and genomic ancestry in Brazilians. *PNAS.* 2003; 100:177- 182.
 18. Cruz IBM, Oliveira G, Taufer M, Leal NF, Schwanke CH, Glock L, et al.

Angiotensin I-converting enzyme gene polymorphism in two ethnic groups living in Brazil's southern region: association with age. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci.* 2003; 58:851-856.

19. Warren JTJ, Peacock ML, Rodriguez LC, Fink JK. An MspI polymorphism in the human serotonin receptor gene (HTR2): Detection by DGGE and RFLP analysis. *Hum Mol Genet.* 1993; 2:338.
20. Tsai SJ, Hong CJ, Hsu CC, Cheng CY, Liao WY, Song HL, et al. Serotonin-2A receptor polymorphism (102 T/C) in mood disorders. *Psychiatry Res.* 1999; 87:233-237.
21. Aghajanian GK, Sanders-Bush E . Serotonin Neuropsychopharmacology: Neuropsychopharmacology A.C.O. (Ed). *Psychopharmacology - The fifth generation of progress 2005.* Nashville: American College of Neuropsychopharmacology ; 2005. p 15-34.
22. Jacobs BL, Fornal CA . Serotonin and behavior: A general hypothesis in: neuropsychopharmacology A.C.o. (Ed), *Psychopharmacology - The Fourth Generation of Progress 2004.* Nashville: American College of Neuropsychopharmacology; 2004.

23. Bjork JM, Moeller FG, Dougherty DM, Swann AC, Machado MA, Hanis CL. Serotonin 2a receptor T102C polymorphism and impaired impulse control. *Am J Med Genet.* 2002; 114(3):336-339.
24. Li J, Wang Y, Qian Q, Wang B, Zhou R. Association of 5-HT(2A) receptor polymorphism and attention deficit hyperactivity disorder in children. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi.* 2002; 82(17):1173-1176.
25. Jin-Ho C, Shu-Ying Z, Kyung-Woo P, Young-Seok C, Byung-Hee O, Myoung-Mook L, et al. The association between the T102C polymorphism of the HTR2A serotonin receptor gene and HDL cholesterol level in Koreans. *J Biochem Mol Biol.* 2005; 38(2):238-242.
26. Liolitsa D, Powell JF, Prince M, Lovestone S. Association study of the 5-HT2A receptor gene polymorphism, T102C and essential hypertension. *J Hum Hypertens.* 2001; 15(5):335-339.
27. Roth BL, Meltzer HY . The role of serotonin in schizophrenia. *Psychopharmacology. The fourth generation of progress.* Nashville: American College of Neuropsychopharmacology; 1995. p.1215-1228.
28. Kendler KS, Diehl SR. Genetics of schizophrenia: a current, genetic-epidemiologic perspective. *Schizophr Bull.* 1993; 19:261-285.

29. Williams J, Spurlock G, McGuffin P, Mallet J, Nothen MM, Gill M. Association between schizophrenia and T102C polymorphism of the 5-hydroxytryptamine type 2a-receptor gene. *Lancet*. 1996; 347:1294-1296.
30. Williams J, McGuffin P, Nöthen MM, Owen J. Meta-analysis of association between the 5-HT2a receptor T102C polymorphism and schizophrenia. *Lancet*. 1997; 349:1221.
31. Abdolmaleky HM, Faraone SV, Glatt SJ, Tsuang MT. Meta-analysis of association between the T102C polymorphism of the 5HT2a receptor gene and schizophrenia. *Schizophr Res*. 2004; 67:53-62.
32. DATASUS. Mortalidade por doenças mentais e comportamentais por faixas etárias na região metropolitana de Porto Alegre de 1996 a 2005. DATASUS. www.datasus.gov.br; 2007.
33. Sheline YI, Mintun MA, Moerlein SM, Snyder AZ. Greater loss of 5-HT(2A) receptors in midlife than in late life. *Am J Psychiatry*. 2002; 159:430-435.
34. Polesskaya OO, Sokolov BP. Differential expression of the “C” and “T” alleles of the 5-HT2A receptor gene in the temporal cortex of normal individuals and schizophrenics. *J Neurosci Res*. 2002; 67:812-822.

35. Gondo Y, Hirose N, Arai Y, Yamamura K, Shimizu K, Takayama M, et al. Contribution of an affect-associated gene to human longevity: prevalence of the long-allele genotype of the serotonin transporter-linked gene in Japanese centenarians. *Mech Ageing Dev.* 2005; 126:1178-1184.
36. Stessman J, Maaravi Y, Hammerman-Rozenberg R, Cohen A, Nemanov L, Gritsenko I, et al. Candidate genes associated with ageing and life expectancy in the Jerusalem longitudinal study. *Mech Ageing Dev.* 2005; 126:333-339.
37. Wachouder S, Rothman N, Caporaso N. Population stratification in epidemiologic studies of common genetic variants and cancer: quantification of bias. *J Natl Cancer Inst.* 2000; 92:1151-1158.
38. Colhoun H, McKeigue PM, Smith GD. Problems of reporting genetic associations with complex outcomes. *Lancet.* 2003; 361:865-872.

FIGURE 1 Agarose gel electrophoresis for the genotyping of T102C polymorphism of gene 5-HT2A Genotypes TT= 342/342 pb, CT= 342/216/126 pb e CC= 216/126 pb

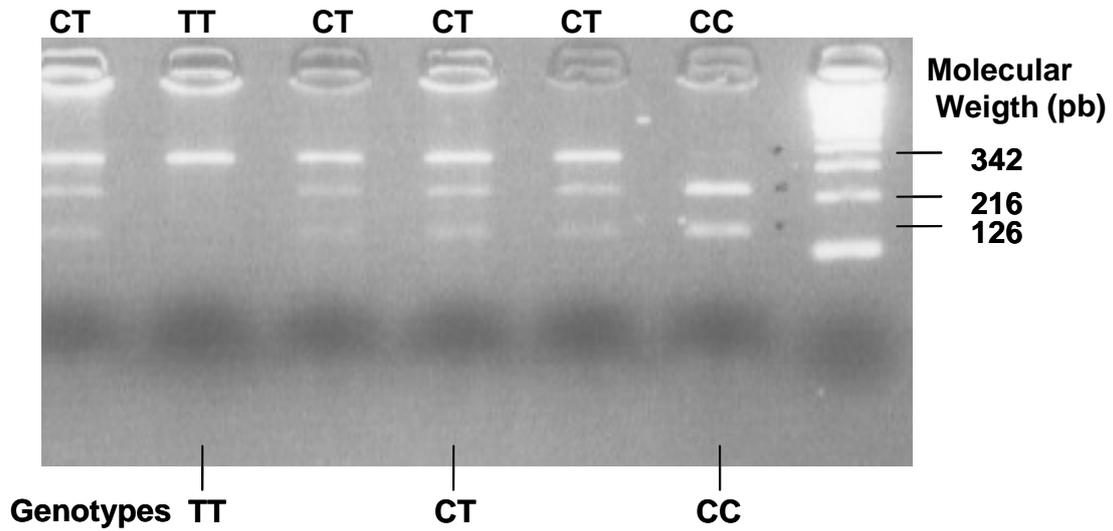


TABLE 1 Sample characterization

Sample		Number (%)
Gender	Male	263 (38.3)
	Female	424 (61.7)
Genotypic frequency	TT	148 (21.5)
	CC	114 (16.6)
	TC	425 (61.9)
Allelic frequency	T	721 (52.5)
	C	653 (47.5)

TABLE 2 Mean age of each genotype of gene 5-HT2A

Genotypes	Mean age \pm sd
TT	60.27 \pm 12.60 ^a
CC	58.07 \pm 15.48 ^{a,b}
TC	56.80 \pm 13.18 ^b
Total	57.75 \pm 13.52

Means showing the same letters did not present statistical differences using ANOVA one-way test followed by post hoc Bonferroni's test

FIGURE 2 Distribution of the 5-HT2A genotypes by age groups

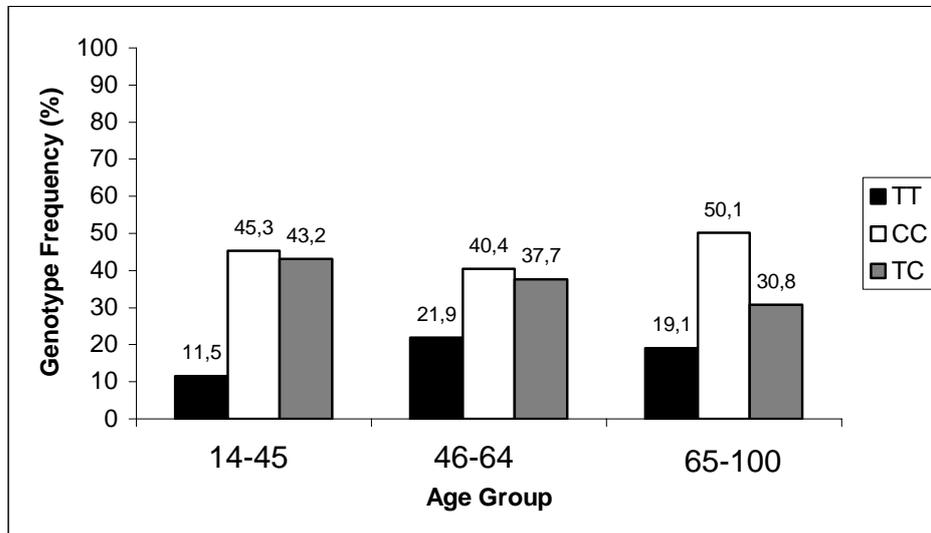


TABLE 3 Absolute prevalence of mortality by mental and behavioral diseases from 1996 to 2005 in the metropolitan region of Porto Alegre according to DATASUS DIC-10 V (2007).

Year	1996	1997	1998	1999	2000	2001	2002	2003	2004	2005
Reproductive age group	109	80	94	111	94	118	137	143	155	151
Post-reproductive age group	144	118	136	151	189	169	189	222	240	260
Elderly group	73	74	87	117	160	174	164	191	199	208

**6. Artigo submetido para revista Brazilian Journal of Medical and
Biological Research**

**Existe associação entre o polimorfismo T102C do receptor 2A da
serotonina e tempo de vida médio em seres humanos?**

Paulo Fernandes Costa Jobim¹, Pedro Antônio Schmidt do Prado-Lima²,
Carla Helena Augustin Schwanke³, Roberto Giugliani⁴ e Ivana Beatrice
Mânica da Cruz⁵.

¹ Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas, Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

² Instituto de Pesquisas Biomédicas, Hospital São Lucas, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul.

³ Departamento de Ciências Morfo-fisiológicas, Faculdade de Biociências, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul.

⁴ Serviço de Genética Médica, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

⁵ Departamento de Morfologia, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Santa Maria.

Endereço para correspondência:

Paulo Fernandes Costa Jobim
Rua Professor Antônio José Remião, 15/17
Porto Alegre – Brasil
91770-670
+55-51-33927360
Email: pjobim@uol.com.br

RESUMO

Doenças e comportamentos de risco relacionados ao polimorfismo T102C do gene 5-HT2A, como esquizofrenia, suicídio, impulsividade, adição, entre outros, podem encurtar o tempo de vida médio. Uma amostra de 687 indivíduos residentes na região metropolitana da Grande Porto Alegre foi genotipada e categorizada de acordo com suas respectivas idades e gêneros. Foram observadas diferenças significativas entre a distribuição dos genótipos do polimorfismo T102C do gene 5-HT2A e idade média da amostra ($p=0,026$) e também entre os genótipos e grupos etários ($p=0,012$). Estes resultados sugerem que o polimorfismo T102C do gene 5-HT2A possa desempenhar algum papel no tempo de vida médio dos seres humanos.

Palavras Chaves: tempo de vida médio; serotonina; receptor 2A da serotonina; polimorfismo T102C; envelhecimento; gene 5-HT2A.

Introdução

A teoria do pleiotropismo antagônico sugere que a pressão evolutiva selecionou mutações que beneficiavam a sobrevivência em idades pré-reprodutivas, aumentando o sucesso reprodutivo, mesmo que tais mutações tragam conseqüências adversas em fases pós-reprodutivas e velhice (1). A partir do pressuposto de que a maioria das rotas biológicas tem sido conservada pela evolução (2), estudos relacionados ao tempo de vida médio, ou expectativa de vida, podem ser importantes para o entendimento do processo de envelhecimento e longevidade. De fato, progressos nos estudos do genoma têm indicado que polimorfismos genéticos contribuem para o tempo de vida médio (3), uma vez que mais de 25% das variações da longevidade média dos humanos é hereditária (4).

Uma hipótese sugerida por Stanford e Finch (2004) postulou a fixação de genes adaptativos ao consumo de carne no genoma humano ao longo da evolução, onde tais genes estariam relacionados ao tempo de vida. Os autores argumentam que o consumo de carne pode ter tido um papel importante durante a evolução humana, estendendo o tempo de vida da espécie. A função dos genes adaptativos ao consumo de carne seria reduzir os efeitos nocivos da ingestão de carnes, tais como o aumento do colesterol, que é fator de riscos para Alzheimer e doenças vasculares, além de reduzir o risco de possíveis infecções. Os ancestrais dos seres humanos foram caçadores-coletores e precisavam transmitir o conhecimento de execução de tais atividades entre as gerações, aumentando assim o tempo de vida pós-reprodutivo, onde os indivíduos detinham o conhecimento a ser transmitido e o

período de infância e adolescência, onde os indivíduos desenvolviam habilidades suficientes para caça. Este ciclo teve como consequência o sucesso reprodutivo da espécie (5).

Genes relacionados ao alcance do sucesso reprodutivo, via preferência alimentar, podem estar relacionados também ao aumento do tempo de vida médio. Um estudo realizado por Prado-Lima et al. (2006) mostrou que o genótipo TT do polimorfismo T102C do gene 5-HT2A está relacionado à preferência pela ingestão de carne (6). Outro estudo, feito por Herberth et al. (2005), achou associação entre o polimorfismo 1438G/A do gene 5-HT2A e consumo de gordura em pessoas jovens. O autor reforça a idéia que tais resultados podem ajudar a explicar o papel do sistema serotoninérgico no comportamento alimentar (7).

Muitas investigações epidemiológicas descrevem a possível associação entre o genótipo CC do polimorfismo do gene 5-HT2A e doenças neuro-psiquiátricas como esquizofrenia, sintomas psicóticos em pacientes com doença de Alzheimer, transtorno de déficit de atenção e hiperatividade (TDAH), suicídio e adição em tabaco (8-10). Por outro lado, muitos outros estudos demonstram associação positiva entre o genótipo TT do polimorfismo T102C do gene 5-HT2A e infarto agudo do miocárdio, derrame, hipertensão e alta taxa de agregação plaquetária em adultos saudáveis (11-14). A partir destas características biológicas e com base em estudos que demonstram associações entre o polimorfismo T102C do gene 5-HT2A e preferência alimentar, adição e doenças crônicas relacionadas aos alelos T e C, nós perguntamos se este polimorfismo pode estar associado ao tempo de vida médio dos seres humanos.

Metodologia

O presente estudo tem caráter observacional, transversal, de base populacional e na estimativa de gene-doenças proposta por Little et al. (2002) (15). A amostra foi constituída de 687 indivíduos provenientes de duas fontes: 267 indivíduos de um estudo epidemiológico de envelhecimento desenvolvido na cidade de Gravataí-RS, na área metropolitana da Grande Porto Alegre e 420 indivíduos de um SPA de saúde em Gramado-RS, próximo à área metropolitana da Grande Porto Alegre.

Nós excluimos pessoas com parentesco de primeiro e segundo grau para evitar erros nas freqüências genéticas. A ancestralidade da região sul do Brasil possui uma grande variação étnica que se salienta em grandes áreas urbanas como a região metropolitana da Grande Porto Alegre (16,17). Um estudo realizado por Cruz et al. (2003) mostrou que a composição étnica da região metropolitana da Grande Porto Alegre é apropriada para implementação de estudos epidemiológicos de envelhecimento (18). Uma análise adicional comparando as freqüências genóticas entre as duas fontes amostrais demonstrou que não há diferenças nas freqüências alélicas e genóticas do polimorfismo T102C do gene 5-HT2A. Com base nestas evidências, nós optamos em considerar as duas fontes da amostra como sendo geneticamente uma única população.

O polimorfismo T102C do gene 5-HT2A foi determinado por extração do DNA linfocitário e a genotipagem foi feita pela técnica da reação em cadeia da polimerização (PCR) descrita por Warren et al. (1993) (19), com pequenas

modificações feitas por Tsai et al. (1999) (20). O produto do PCR foi digerido pela enzima de restrição Hpa II, separado por eletroforese e visualizado com luz ultravioleta (UV). O alelo T aparece sem corte da enzima de restrição, com uma banda de DNA na altura de 342 pb, já o alelo C apresenta duas bandas de DNA na altura de 216 e 126 pb. A figura 1 mostra dados de uma genotipagem do polimorfismo T102C do gene 5-HT2A.

Figura 1 aqui

A significância da distribuição genotípica entre os diferentes grupos etários foi averiguada pelo teste do Qui-quadrado. Para comparar as idades médias dos indivíduos dentro dos três genótipos foi usado o teste de ANOVA one-way, seguida do teste de Bonferroni post hoc. As análises estatísticas foram feitas pelo programa SPSS versão 13.0 (SPSS, Inc, IL).

Resultados

A idade mínima e máxima da amostra foi de 14 e 100 anos, respectivamente. A tabela 1 mostra o gênero e a distribuição genotípica e alélica da amostra. A tabela 2 mostra a idade média dentro das categorias genotípicas. Pode-se observar que os portadores de genótipo TT têm idade média maior em comparação aos outros dois genótipos, sendo que os portadores do genótipo CC apresentam idade média intermediária entre os portadores dos genótipos TT e o heterozigoto TC, no qual a

idade médias dos portadores é a menor (TT vs TC; $p=0,026$).

Tabela 1 aqui

Tabela 2 aqui

A partir deste resultado, nós procuramos analisar diferenças na distribuição genotípica entre três grupos etários categorizados de forma a obedecer às características biológicas-reprodutivas de indivíduos braseiros: grupo reprodutivo (14 a 45 anos; $n=123$), grupo pós-reprodutivo (46 a 64 anos; $n=326$) e grupo idoso (65 a 100 anos; $n= 238$). Houve diferenças estatísticas entre os três grupos etários quanto à distribuição gênica ($p=0,017$). Os portadores do genótipo TT estão em maior número no grupo idoso, em comparação ao grupo reprodutivo. Os portadores do genótipo CC estão em menor número no grupo pós-reprodutivo em comparação aos outros dois grupos etários e, finalmente, os portadores do genótipo TC vão diminuindo em número a partir do grupo reprodutivo até o grupo idoso (Figura 2). Não houve diferença significativa entre o gênero e a distribuição dos genótipos dos indivíduos.

Figura 2 aqui

Discussão

Neste artigo nós analisamos a possível associação entre o polimorfismo T102C do gene 5-HT2A e tempo de vida médio humano. Nós encontramos diferenças significativas entre a distribuição gênica e idade. Também parece existir uma diminuição do genótipo CC em idades pós-reprodutivas, uma vez que o número de pessoas com este genótipo parecem diminuir no grupo pós-reprodutivo, mas não no grupo idoso. Por outro lado, os portadores do genótipo TC parecem estar diminuindo em número à medida que envelhecem. Complementarmente, achamos que a média de idade dos portadores do genótipo TT é significativamente maior do que a maior do que a dos portadores do genótipo TC.

A interpretação dos resultados obtidos é feita sob o ponto de vista biológico-evolucionário e surgem, portanto, quatro questionamentos: a) considerando a nulidade do efeito da migração, cruzamentos consangüíneos e taxas de mutação na amostra, por que está ocorrendo uma diminuição do número de portadores do genótipo CC apenas no grupo pós-reprodutivo? b) Por que o número de portadores do genótipo TC diminui gradativamente desde o grupo reprodutivo até o grupo idoso? c) Por que, inversamente aos portadores do genótipo TC, os portadores do genótipo TT aparentemente vivem mais que os portadores dos outros genótipos? d) O gene 5-HT2A pode ser considerado um candidato a corroborar com a hipótese dos genes adaptativos ao consumo de carne proposta por Finch e Stanford (2004), assim estando relacionado ao tempo de vida médio humano? Estas questões são complexas e difíceis de serem respondidas a partir desta investigação preliminar,

contudo, nós procuramos explorar alguns elementos que podem contribuir para respostas biologicamente plausíveis.

Primeiramente é importante compreender o papel biológico da serotonina (5-HT). A 5-HT é uma molécula ancestral que mais recentemente atua como neurotransmissor, regulando diversas funções cerebrais, além de estar envolvida em uma ampla gama de comportamentos como medo, sono, apetite, humor e sexual. Falhas na modulação da 5-HT implicam no surgimento de muitas doenças crônicas não transmissíveis, como doenças cardiovasculares e desordens psiquiátricas (21).

Muitas linhas de evidências sugerem que o polimorfismo T102C do gene 5-HT2A tem um papel importante no suicídio, impulsividade e alterações emocionais (22). Estudos caso-controle têm descrito a possível associação entre o alelo C e doenças neuro-psiquiátricas, mesmo que ainda existam muitos dados controversos. Bjork et al. (2002) observaram que pacientes homocigotos para o alelo C apresentavam aumento na ideação suicida. Os autores sugerem que o polimorfismo T102C do gene 5-HT2A pode ser um marcador de desordens psiquiátricas (23). Outro estudo conduzido por Li et al. (2002) sobre a associação entre o polimorfismo T102C do gene 5-HT2A e TDAH, sugere que o genótipo TT tenha um papel protetor e o genótipo TC seja um fator de risco, sendo que em mulheres com (TDAH) o alelo C seria um pré-dispositor para doença (24).

Um estudo conduzido por Jin-Ho et al. (2005) sugeriu a associação entre o genótipo CC e baixos níveis de HDL em coreanos (25). Complementarmente, Liolitsa et al. (2001) acharam um aumento na frequência do alelo C em indivíduos hipertensos (26). Yamada et al. (2000) sugerem que o polimorfismo T102C do gene

5-HT2A possa ser um marcador genético para infarto agudo do miocárdio (11). Contudo, provavelmente a linha mais explorada em relação ao polimorfismo T102C do gene 5-HT2A é com esquizofrenia, uma vez que o metabolismo serotoninérgico está envolvido na etiologia da esquizofrenia, que afeta cerca de 1% da população mundial (27). Investigações sugerem que a esquizofrenia tem caráter hereditário (28) e muitos estudos apontam para uma relação entre o polimorfismo T102C do gene 5-HT2A e esta doença (29,30) e também para a ação terapêutica da clozapina (31).

Infelizmente, não existem muitos dados demográficos sobre mortalidade por doenças neuro-psiquiátricas. A partir de dados publicados pela base de dados do sistema único de saúde do Brasil (32), pode-se notar que a mortalidade no Rio Grande do Sul por doenças comportamentais (CID 10.V), que inclui transtornos de humor, esquizofrenia, transtornos de personalidade e emocionais, entre outras doenças potencialmente influenciadas pelo polimorfismo T102C do gene 5-HT2A, é alta, principalmente no grupo pós-reprodutivo. Estes dados sugerem que o presente estudo é relevante por apresentar compatibilidade com a taxa de mortalidade Rio Grande do Sul (Figura 3).

Figura 3 aqui

Um estudo anterior mostrou que em seres humanos ocorre uma perda linear do receptor 5-HT2A de cerca de 16% a 18% por década de vida no hipocampo e no córtex pré-frontal (33). Os autores comentam que o receptor 5-HT2A diminui drasticamente em muitas regiões do cérebro depois de meio século de vida.

Polesskaya e Sokolov (2002) desenvolveram um método de determinar o efeito dos alelos T e C do polimorfismo T102C do gene 5-HT2A através da expressão do mRNA. Através desta técnica, os autores demonstraram que a expressão do alelo C é 20% menor que a expressão do genótipo T (34). Outros dois estudos que usaram uma amostra similar a nossa, realizados por Prado-Lima et al. (2004) acharam que o alelo C é mais freqüente em indivíduos que têm o hábito de fumar (10), e que portadores do genótipo TT têm uma maior preferência por consumir carne do que portadores de pelo menos um alelo C (6).

No momento, pouco é conhecido sobre polimorfismos genéticos associados ao tempo de vida médio. Entretanto, polimorfismos no sistema serotoninérgico alteram rotas neuro-metabólicas, levando a doenças neuro-psiquiátricas e comportamentos que potencialmente levam a morte, ou a condições que encurtam a expectativa de vida.

Alguns estudos mais recentes fortalecem esta hipótese, como a investigação feita por Gondo et al. (2005), que comparando centenários e jovens, sugere existe associação entre o gene do transportador da serotonina (5-HTT) e longevidade via preditores negativos da longevidade (35). Por outro lado, Stessman et al. (2005) não acharam associação entre o mesmo polimorfismo do 5-HTT e longevidade em judeus que vivem em Jerusalém (36), o que sugere a ocorrência de variáveis intervenientes que podem incluir a interação entre polimorfismos genéticos influenciando a longevidade. Neste estudo, nós estamos trabalhando apenas com a parte relativa ao efeito de um *single nucleotide polymorphism* (SNP). Contudo, é viável categorizar influências ambientais como preditores negativos e positivos do

tempo de vida médio. Afinal, se realmente existe uma influência genética sobre o tempo de vida médio, esta teria como consequência a escolha de viver ou não tais preditores e, se isso ocorre, pode ser que portadores do genótipo TC escolham mais preditores negativos do que portadores do genótipo TT e, por consequência, vivam menos.

Nossos resultados sugerem que o polimorfismo T102C do gene 5-HT2A está associado ao tempo de vida médio e assim este gene se torna um possível candidato ao grupo de genes adaptativos ao consumo de carne, como proposto por Stanford e Finch (2004). Contudo, estudos adicionais necessitam ser feitos para clarear a relação dos polimorfismos genéticos e tempo de vida médio. Os resultados obtidos neste estudo podem ser considerados como preliminares e apresentam algumas limitações. Uma delas pode estar relacionada à estratificação da população, contudo uma análise feita por Wachouder et al. (2000) sugere que o erro atribuído à estratificação de uma população é mínimo (37). Outra limitação é o fato de que populações etnicamente misturadas possam causar vieses nas frequências gênicas observadas.

Tempo de vida médio é um fenômeno complexo que envolve muitos fatores genéticos e ambientais. Colhoun et al. (2003) comenta que a incapacidade de replicar muitos resultados tem levado a um contínuo ceticismo quanto ao valor dos achados de estudos de associação simples entre uma variante genética e um fenótipo complexo, como é o caso do tempo de vida médio e ainda sugere que um dos mais importantes fatores por trás desta incapacidade de reproduzir tais associações é o viés de publicação, que falham em atribuir alterações nos resultados

e tamanho da amostra inadequado (38). Por fim, o mérito deste estudo é majoritariamente contribuir para o entendimento da influência genética sobre a expectativa de vida humana. Podemos concluir a partir dos nossos resultados que o polimorfismo T102C do gene 5-HT2A altera o tempo de vida médio da população do Rio Grande do Sul. Outros estudos adicionais devem ser feitos para reforçar esta sugestão.

AGRADECIMENTOS

Somos muito gratos a todos os membros do Programa Gênesis de Pesquisa por colaborar conosco na coleta de dados e na análise molecular. Nós também agradecemos ao Conselho Nacional de Pesquisa (CNPq) e ao Conselho de Aperfeiçoamento do Ensino Superior (CAPES) pelo auxílio financeiro.

REFERÊNCIAS

1. Martin GM, Bergman A, Barzilai N. Genetic determinants of human health span and life span: progress and new opportunities. *PLoS Genet.* 2007; 3 (7):1121-1130.
2. Browner WS, Kahn AJ, Ziv E, Reiner AP, Oshima J, Cawthon RM, et al. The Genetics of human longevity. *Am J Med.* 2004;117(1):851-860.
3. Toupance B, Godelle B, Gouyon P, Schachter F. A model for antagonistic pleiotropic gene action for mortality and advanced age. *Am J Hum Genet.* 1998; 62:1525–1534.
4. Mitchell BD, Hsueh WC, King TM. Heritability of life span in the old order Amish. *Am J Med Genet.* 2001;102:346 - 352.
5. Finch CE, Stanford CB. Meat adaptative genes and the evolution of slower aging in humans. *Quart Rev Bio.* 2004; 79 (1):4-50.
6. Prado-Lima PAS, Cruz IBM, Schwanke, CHA, Netto, CA, Licinio J. Human food preferences are associated with a 5-HT2A serotonergic receptor polymorphism. *Molec Psych.* 2006; 11:888-891.

7. Herbeth B, Aubry E, Fumeron F, Aubert R, Cailotto F, Siest G, et al. Polymorphism of the 5-HT_{2A} receptor gene and food intakes in children and adolescents: the Stanislas Family Study. *Am J Clin Nut.* 2005; 82 (2):467-470.
8. Anguelova M, Benkelfat C, Turecki G. A systematic review of association studies investigating genes coding for serotonin receptors and the serotonin transporter: II Suicidal behavior. *Mol Psychiatry.* 2003; 8:646-653.
9. Lorenzo CV, Baca-Garcia E, Diaz-Hernandez M, Botillo-Martin C, Perez-Rodriguez M M, Fernandez-Ramos C, et al. Association between the T102C polymorphism of the serotonin-2A receptor gene and schizophrenia. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* 2006; 30 (6):1136-1138.
10. Prado-Lima PAS, Chatkin JM, Taufer M, Oliveira G, Silveira E, Neto CA, et al. Polymorphism of 5HT_{2A} serotonin receptor gene is implicated in smoking addiction. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet.* 2004; 128(1):90-93.
11. Yamada S, Akita H, Kanazawa K, Ishida T, Hirata K, Ito K, et al. T102C polymorphism of the serotonin (5-HT) 2A receptor gene in patients with non-fatal acute myocardial infarction. *Atherosclerosis.* 2000; 150 (1):143-148.
12. Olesen OF, Bennike B, Dam H, Mellerup E. Association of the 5-HT_{2A} receptor gene polymorphism 102 T/C with ischemic stroke. *J Mol Neurosci.*

- 2006; 30(3):323-328.
13. Yamamoto M, Jin JJ, Wu Z, Abe M, Tabara Y, Nagai T, et al. Interaction between Serotonin 2A receptor and Endothelin-1 variants in association with hypertension in Japanese. *Hypertens Res.* 2006; 9(4):227-232.
 14. Oezdener F, Guelbas Z, Erol K, Ozdemir V. 5-Hydroxytryptamine-2A receptor gene (HTR2A) candidate polymorphism (T102C): Role for human platelet function under pharmacological challenge ex viv. *Methods Find Exp Clin Pharmacol.* 2005; 27(6):395.
 15. Little J, Bradley L, Bray M, Clyne M, Dorman J, Darre I L. Reporting appraising and integrating data on genotype prevalence and gene–disease associations. *Am J Epidemiol.* 2002; 156:300-310.
 16. Alves-Silva J, Santos MS, Guimaraes PEM, Ferreira ACS, Bandelt HJ, Pena SDJ, et al. The ancestry of Brazilian mtDNA lineages. *Am J Hum Genet.* 2000; 67:444-461.
 17. Parra FC, Amado RC, Lambertucci JR, Rocha J, Antunes CM, Pena SD. Color and genomic ancestry in Brazilians. *PNAS.* 2003; 100:177- 182.
 18. Cruz IBM, Oliveira G, Taufer M, Leal NF, Schwanke CH, Glock L, et al.

- Angiotensin I-converting enzyme gene polymorphism in two ethnic groups living in Brazil's southern region: association with age. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci.* 2003; 58:851-856.
19. Warren JTJ, Peacock ML, Rodriguez LC, Fink JK. An MspI polymorphism in the human serotonin receptor gene (HTR2): Detection by DGGE and RFLP analysis. *Hum Mol Genet.* 1993; 2:338.
 20. Tsai SJ, Hong CJ, Hsu CC, Cheng CY, Liao WY, Song HL, et al. Serotonin-2A receptor polymorphism (102 T/C) in mood disorders. *Psychiatry Res.* 1999; 87:233-237.
 21. Aghajanian GK, Sanders-Bush E . Serotonin Neuropsychopharmacology: Neuropsychopharmacology A.C.O. (Ed). *Psychopharmacology - The fifth generation of progress 2005.* Nashville: American College of Neuropsychopharmacology ; 2005. p 15-34.
 22. Jacobs BL, Fornal CA . Serotonin and behavior: A general hypothesis in: neuropsychopharmacology A.C.o. (Ed), *Psychopharmacology - The Fourth Generation of Progress 2004.* Nashville: American College of Neuropsychopharmacology; 2004.

23. Bjork JM, Moeller FG, Dougherty DM, Swann AC, Machado MA, Hanis CL. Serotonin 2a receptor T102C polymorphism and impaired impulse control. *Am J Med Genet.* 2002; 114(3):336-339.
24. Li J, Wang Y, Qian Q, Wang B, Zhou R. Association of 5-HT(2A) receptor polymorphism and attention deficit hyperactivity disorder in children. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi.* 2002; 82(17):1173-1176.
25. Jin-Ho C, Shu-Ying Z, Kyung-Woo P, Young-Seok C, Byung-Hee O, Myoung-Mook L, et al. The association between the T102C polymorphism of the HTR2A serotonin receptor gene and HDL cholesterol level in Koreans. *J Biochem Mol Biol.* 2005; 38(2):238-242.
26. Liolitsa D, Powell JF, Prince M, Lovestone S. Association study of the 5-HT2A receptor gene polymorphism, T102C and essential hypertension. *J Hum Hypertens.* 2001; 15(5):335-339.
27. Roth BL, Meltzer HY . The role of serotonin in schizophrenia. *Psychopharmacology. The fourth generation of progress.* Nashville: American College of Neuropsychopharmacology; 1995. p.1215-1228.
28. Kendler KS, Diehl SR. Genetics of schizophrenia: a current, genetic-epidemiologic perspective. *Schizophr Bull.* 1993; 19:261-285.

29. Williams J, Spurlock G, McGuffin P, Mallet J, Nothen MM, Gill M. Association between schizophrenia and T102C polymorphism of the 5-hydroxytryptamine type 2a-receptor gene. *Lancet*. 1996; 347:1294-1296.
30. Williams J, McGuffin P, Nöthen MM, Owen J. Meta-analysis of association between the 5-HT2a receptor T102C polymorphism and schizophrenia. *Lancet*. 1997; 349:1221.
31. Abdolmaleky HM, Faraone SV, Glatt SJ, Tsuang MT. Meta-analysis of association between the T102C polymorphism of the 5HT2a receptor gene and schizophrenia. *Schizophr Res*. 2004; 67:53-62.
32. DATASUS. Mortalidade por doenças mentais e comportamentais por faixas etárias na região metropolitana de Porto Alegre de 1996 a 2005. DATASUS. www.datasus.gov.br; 2007.
33. Sheline YI, Mintun MA, Moerlein SM, Snyder AZ. Greater loss of 5-HT(2A) receptors in midlife than in late life. *Am J Psychiatry*. 2002; 159:430-435.
34. Polesskaya OO, Sokolov BP. Differential expression of the “C” and “T” alleles of the 5-HT2A receptor gene in the temporal cortex of normal individuals and schizophrenics. *J Neurosci Res*. 2002; 67:812-822.

35. Gondo Y, Hirose N, Arai Y, Yamamura K, Shimizu K, Takayama M, et al. Contribution of an affect-associated gene to human longevity: prevalence of the long-allele genotype of the serotonin transporter-linked gene in Japanese centenarians. *Mech Ageing Dev.* 2005; 126:1178-1184.
36. Stessman J, Maaravi Y, Hammerman-Rozenberg R, Cohen A, Nemanov L, Gritsenko I, et al. Candidate genes associated with ageing and life expectancy in the Jerusalem longitudinal study. *Mech Ageing Dev.* 2005; 126:333-339.
37. Wachouder S, Rothman N, Caporaso N. Population stratification in epidemiologic studies of common genetic variants and cancer: quantification of bias. *J Natl Cancer Inst.* 2000; 92:1151-1158.
38. Colhoun H, McKeigue PM, Smith GD. Problems of reporting genetic associations with complex outcomes. *Lancet.* 2003; 361:865-872.

FIGURA 1 Gel de agarose com a genotipagem do polimorfismo T102C do gene 5-HT2A. Genótipos TT= 342/342 pb, CT= 342/216/126 pb e CC= 216/126 pb.

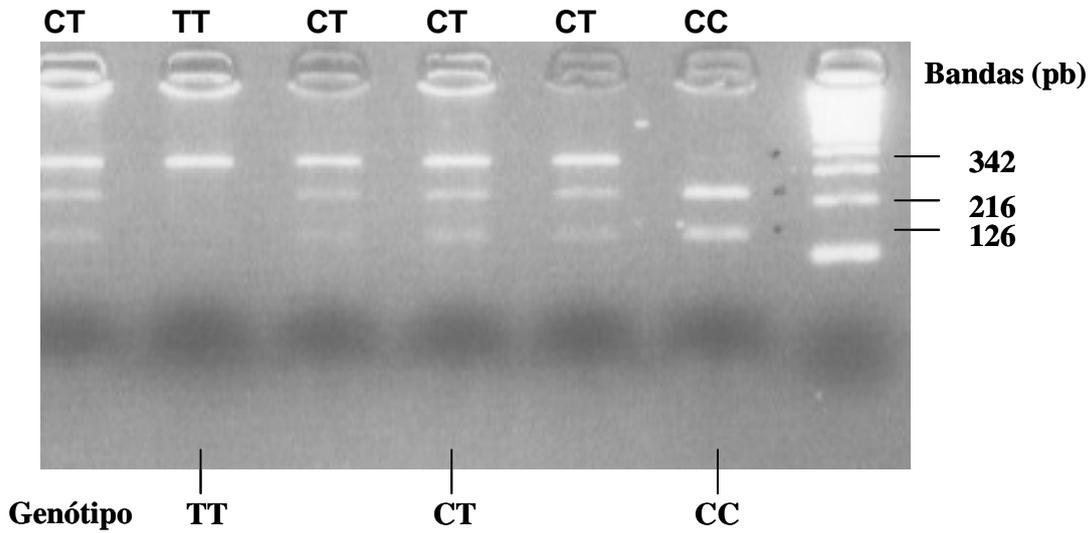


TABELA 1 Caracterização da amostra

Amostra		Número (%)
Gênero	Homens	263 (38.3)
	Mulheres	424 (61.7)
Frequência genotípica	TT	148 (21.5)
	CC	114 (16.6)
	TC	425 (61.9)
Frequência alélica	T	721 (52.5)
	C	653 (47.5)

TABELA 2 Média de idade de cada genótipo do gene 5-HT2A

Genótipos	Idade média±dp
TT	60,27±12,60 ^a
CC	58,07±15,48 ^{a,b}
TC	56,80±13,18 ^b
Total	57.75±13.52

Médias com a mesma letra não apresentam diferenças estatísticas por Anova One-Way seguido por Bonferroni *post hoc*.

FIGURA 2 Distribuição dos genótipos do 5-HT2A por grupo etário.

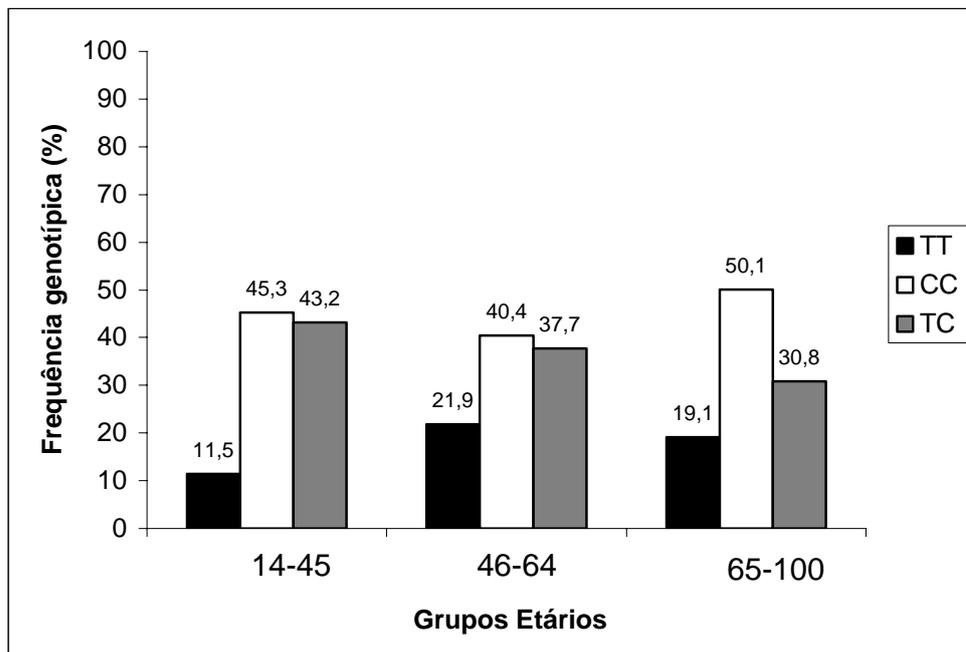


TABELA 3 Prevalência absoluta de mortalidade por doenças mentais e comportamentais na região metropolitana de Porto Alegre de 1996 a 2005 de acordo com o DATASUS CID-10 V (2007).

Ano	1996	1997	1998	1999	2000	2001	2002	2003	2004	2005
Grupo em idade Reprodutivo	109	80	94	111	94	118	137	143	155	151
Grupo em idade Pós-reprodutivo	144	118	136	151	189	169	189	222	240	260
Grupo Idoso	73	74	87	117	160	174	164	191	199	208

7. Considerações finais

A busca pelo entendimento dos fatores genéticos de predisposição a disfunções orgânicas é árdua. Apenas recentemente a comunidade científica está se aproximando de respostas mais conclusivas. O presente estudo foi conduzido de modo a explorar novas perspectivas a cerca do tempo de vida médio. O polimorfismo T102C do gene 5-HT2A gera fenótipos disfuncionais que, por sua vez, podem ter como consequência o encurtamento do tempo de vida médio. É esta a base teórica que este estudo usa para sugerir que o polimorfismo T102C do gene 5-HT2A pode influenciar o tempo de vida médio dos seres humanos.

Um único SNP (*Single Nucleotid Polymorphism*) pode desempenhar um papel decisivo para um fenótipo complexo, mesmo que a expressão deste fenótipo aconteça via interação gene-gene e gene-ambiente, o que possivelmente deve ser o caso do polimorfismo T102C do gene 5-HT2A. Colhoun et al. (2003) comentam que a incapacidade de replicar muitos resultados leva a um contínuo ceticismo quanto ao valor dos achados de estudos de associação simples entre uma variante genética e um fenótipo complexo, e ainda sugere que um dos mais importantes fatores por trás desta incapacidade de reproduzir tais associações é o viés de publicação, que falham em atribuir alterações nos resultados e no tamanho inadequado da amostra.

Foram encontradas, no trabalho em questão, algumas diferenças na distribuição gênica e etária que podem ser bons indicativos do mecanismo de atuação do polimorfismo T102C do gene 5-HT2A no tempo de vida médio. A visualização da frequência diminuída do genótipo TC em indivíduos com idade entre

65 e 100 anos leva ao questionamento sobre o que estaria acontecendo com seus portadores nas demais faixas etárias estudadas? Por outro lado, a diminuição do genótipo CC no grupo de indivíduos em idade pós-reprodutiva leva a questão do que estaria acontecendo com seus portadores neste período da vida, uma vez que o número de pessoas com este genótipo parece não diminuir no grupo idoso? Complementarmente, verificou-se que a média de idade dos portadores do genótipo TT é significativamente maior do que a dos portadores do genótipo TC.

A mortalidade na região metropolitana da Grande Porto Alegre por doenças mentais e comportamentais é alta, principalmente no caso de indivíduos em idade pós-reprodutiva. O DATASUS (2007) inclui como doenças mentais e comportamentais disfunções relacionadas ao polimorfismo T102C do gene 5-HT2A. Desta forma existe relevância em se estudar as causas genéticas das patologias que tem alta prevalência de mortalidade em nossa população.

No momento, pouco se conhece sobre polimorfismos genéticos associados ao tempo de vida médio. Entretanto, genes do sistema serotoninérgico que alteram rotas neuro-metabólicas e levam a doenças neuro-psiquiátricas e a comportamentos que podem encurtar o tempo de vida médio são bons candidatos. Alguns estudos fortalecem esta hipótese, como, por exemplo, uma investigação feita por Gondo et al. (2005) sugere uma associação entre o gene do transportador da serotonina (5-HTT) e longevidade. Por outro lado, Stessman et al. (2005) não acharam associação entre o mesmo polimorfismo do gene 5-HTT e longevidade em judeus que vivem em Jerusalém, o que indica uma possível ocorrência de variáveis intervenientes que podem incluir a interação entre polimorfismos genéticos influenciando a longevidade.

Os resultados do presente estudo, que podem ser considerados como exploratórios, sugerem timidamente que o polimorfismo T102C do gene 5-HT2A está associado ao tempo de vida médio. Neste contexto, é pertinente notar que este estudo apresenta algumas limitações. Uma delas pode estar relacionada à estratificação da população, apesar de que uma análise feita por Wachouder et al. (2000) sugere que o erro atribuído à estratificação de uma população é mínimo. Por fim, o mérito deste estudo é majoritariamente contribuir para o entendimento da influência genética sobre o tempo de vida médio humano. Outros estudos adicionais devem ser feitos para confirmar ou não esta sugestão.

8. Anexos

8.1. Parecer de aprovação do Comitê de Ética



PRÓ-REITORIA DE PESQUISA
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA
CARTA DE APROVAÇÃO

pro-x-pesq

O Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal do Rio Grande do Sul analisou o projeto:

Número : 2006632

Título : ANÁLISE DA ASSOCIAÇÃO ENTRE O POLIMORFISMO DO GENE 5HT2A DOS RECEPTORES DE SEROTONINA E LONGEVIDADE

Pesquisador (es) :

<u>NOME</u>	<u>PARTICIPAÇÃO</u>	<u>EMAIL</u>	<u>FONE</u>
ROBERTO GIUGLIANI	PESQ RESPONSÁVEL	rgiugliani@hcpa.ufrgs.br	3316730
PAULO FERNANDES COSTA JOBIM	PESQUISADOR	pjobim@uol.com.br	

O mesmo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da UFRGS, reunião nº 12 , ata nº 78 , de 09/11/2006 , por estar adequado ética e metodologicamente e de acordo com a Resolução 196/96 e complementares do Conselho Nacional de Saúde.

Porto Alegre, sexta-feira, 10 de novembro de 2006


LUIZ CARLOS BOMBASSARO
Coordenador do CEP UFRGS

8.2. Primeiro artigo da produção científica 2005

Existe uma associação entre câncer e áreas geográficas cronicamente expostas a agrotóxicos? Uma contribuição ao debate.

There is an association between cancer and agrottoxics cronic exposure regions? A debate contribution.

Paulo Fernandes Costa Jobim¹, Ivana Beatrice Manica da Cruz³, Luciana Neves Nunes,² Maria Cristina Pansera de Araújo⁴ e Roberto Giugliani¹

- 1- Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brasil. Rua Ramiro Barcelos, 2400 - Bairro Santana 90035-003
- 2- Departamento de Estatística, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brasil. Av. Bento Gonçalves, 9500 - Prédio 43-111 – Agronomia 91509-900
- 3- Departamento de Morfologia, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, Brasil. Av. Roraima 1000, Cidade Universitária.
- 4- Departamento de Saúde, Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul, Ijuí, Brasil. Rua São Francisco, 501 – Bairro São Geraldo 98700-000

Send correspondence to the first author: Paulo Fernandes Costa Jobim

Av. Alegrete, 488/301 – Porto Alegre-RS, Brazil

CEP: 90.460-100

Phone: 55-51-33884471

Email: pjobim@uol.com.br

RESUMO

O uso crônico de agrotóxicos em regiões rurais no estado do Rio Grande do Sul (RS) pode estar relacionado ao aumento da incidência de câncer nos trabalhadores rurais envolvidos na produção de alimentos. Foi realizado um estudo ecológico de série temporal (1979 a 2003) na região rural de Ijuí, no estado do RS e no Brasil, com dados anuais do Sistema do Departamento de Estatística do Sistema Único de Saúde (DATASUS), para avaliar o comportamento do coeficiente de mortalidade por câncer, padronizado por idade e sexo. Utilizou-se um modelo de regressão linear simples e múltipla para estimar, respectivamente, as taxas de mortalidade e as diferenças entre as três regiões estudadas. A região de Ijuí (I) e o RS apresentam maior taxa média de mortalidade tanto em homens quanto em mulheres, sendo significativamente diferente ($p < 0,001$) do Brasil. Quando o modelo foi ajustado para as três regiões à tendência de aumento da taxa de mortalidade permanece. Como a demanda de alimentos provenientes da agricultura vem aumentando a cada ano, concluímos que é necessário estudar melhor o risco de câncer dos trabalhadores e das pessoas que vivem nas regiões rurais para elucidar nossos achados.

Agrotóxicos, Câncer, Agricultura, Tendência Linear

ABSTRACT

The chronic use of agrottoxics in rural regions of Rio Grande do Sul (RS) may be high the cancer incidence in rural workers involved in the food production process. A time-trend ecological study was performed in rural region of Ijuí (I), estate of RS and Brazil from 1979 to 2003. Data were collected from the Mortality Information System, Brazilian Ministry of Health (DATASUS), to standardized sex and age -corrected mortality ratios. Linear regression for mortality time-trend analysis and multiple regression for mortality differences among three regions. were calculated. The highest median mortality rate in man and also women were observed in RS and I, and that was significantly greater ($p < 0,001$) than Brazil. When the model was adjusted for the states the upward trend of mortality rates remains. The prosecution of food provides rural regions get high every year, we concluded that continued efforts are needed to better understanding the risk of cancer by rural workers and the people who live in this regions.

Agrottoxics; Cancer, Agriculture, linear trend.

INTRODUÇÃO

De acordo com a Organização das Nações Unidas, o número de pessoas em 2025, dependentes de alimentos provenientes do meio rural no mundo será de 7,9 bilhões de pessoas. (OIT, 2001) Desta forma, o processo de produção agrícola está atravessando por fortes mudanças tecnológicas e organizacionais, cujo resultado final tem sido, entre outros aspectos, o aumento da produtividade. (da Silva et al. 2005)

No Brasil, parte da agricultura sofre um processo contínuo de modernização incorporando novas tecnologias com a perspectiva de aumentar a competitividade no mercado internacional. (Gehlen et al. 2004) A “modernização agrícola” se por um lado, gera crescimento econômico, por outro, tem impacto à saúde humana causado por práticas como o uso massivo e crônico de agrotóxicos que são substâncias químicas que tem por finalidade, controlar ou eliminar plantas e animais (conhecidos como pragas) indesejáveis na agricultura. (Grisolia et al. 2005)

A cultura do uso de agrotóxicos começou partir da década de 60 quando o chamado Plano Nacional do Desenvolvimento (PND) adotado pelo governo obrigou os agricultores a comprar uma cota definida de agrotóxicos para obter recursos do crédito rural. Com essa obrigatoriedade, a utilização de agrotóxicos no Brasil aumentou imensamente contribuindo para a exclusão de práticas alternativas e ecologicamente saudáveis de manejo de pragas. (Garcia, 1996)

De acordo com o censo do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), a população rural corresponde a quase 32 milhões de pessoas e a

população rural economicamente ativa, 12 milhões de pessoas. (IBGE, 2000) Por ano são produzidos no mundo 2,5 milhões de toneladas de agrotóxicos, sendo 39% de herbicidas, 33% de inseticidas, 22% de fungicidas e 6% de outros grupos químicos. No Brasil, a produção de agrotóxicos é de 250 mil toneladas, sendo o oitavo consumidor de agrotóxicos do mundo. (SINDAG, 2005)

Em termos epidemiológicos, cada vez mais casos de pessoas contaminadas diretamente por agrotóxicos no meio rural são identificados. Entretanto, moradores de áreas próximas e, eventualmente, pessoas do meio urbano também se encontram sob risco, devido à contaminação dos alimentos como carne, peixe, laticínios, frutas e vegetais, tornando assim a exposição crônica. (Ritter et al. 1997) Desta forma, os riscos à saúde humana associados ao uso e a exposição crônica a agrotóxicos, especificamente o risco de câncer, têm sido objeto de grande interesse científico.

Em termos populacionais, os efeitos crônicos são mais prejudiciais que os agudos e existem sugestões fortemente apoiadas por evidências que apontam conseqüências deletérias na reprodução até seqüelas neurológicas e possivelmente aumento na suscetibilidade a neoplasias. (Sharp et al. 1986) Assim, indivíduos que participam da produção industrial ou aplicação em larga escala podem estar sujeitos a um maior risco do que a população em geral.

O efeito crônico ocorre, principalmente porque as principais vias de absorção de agrotóxicos são a dérmica, digestiva e respiratória. A maioria dos agrotóxicos é constituída de compostos organoclorados que fica armazenado tanto em tecidos de plantas quanto de animais, incluindo o ser humano. Este grupo de pesticidas compreende hidrocarbonetos que contém em sua estrutura um ou mais anéis

aromáticos ou cíclicos saturados. Tais pesticidas são lipossolúveis e tem grande estabilidade, o que os torna geralmente resistentes à degradação biótica ou abiótica. (Sharp et al. 1986)

Alguns estudos vêm demonstrando que tais agentes podem realmente levar ao desenvolvimento de neoplasias no homem. (Sharp et al. 1986, Páldy et al. 1987, Yoder et al. 1973) Os possíveis mecanismos envolvidos no processo de malignização celular por organoclorados parecem ser inúmeros envolvendo direta ou indiretamente alterações no material genético como demonstram evidências experimentais. (Telang et al. 1982)

Entretanto, do ponto de vista epidemiológico, a avaliação do potencial carcinogênico dos organoclorados e dos demais agrotóxicos é extremamente complexa. As dificuldades são inúmeras em face à heterogeneidade dos compostos utilizados, diversidade de métodos de aplicação e ausência de dados adequados sobre a natureza da exposição. Além do que, o nível de exposição a agrotóxicos estimados em estudos epidemiológicos, nem sempre representa a sua intensidade real. Como a abordagem quantitativa precisa é difícil de ser realizada, acabam sendo utilizadas medidas subjetivas como, por exemplo, tempo de exposição, área geográfica ou frequência de uso.(Brouwer et al. 1994) Apesar das limitações inerentes aos estudos ecológicos, em casos como a investigação da associação entre agrotóxicos e neoplasias, os mesmos podem fornecer informações relevantes, principalmente se o perfil de mortalidade de populações que vivem em áreas geográficas cronicamente expostas for comparado com outras áreas que possuem uma exposição menos intensa. A fim de contribuir com o debate, do quanto áreas

cronicamente expostas a agrotóxicos podem apresentar um padrão de mortalidade diferenciado para neoplasias, foram analisadas, no presente artigo, as taxas de mortalidade por da área geográfica Noroeste Colonial do estado do Rio Grande do Sul em relação as do próprio Estado e a do Brasil ao longo de 24 anos.

MÉTODOS

Um estudo ecológico foi conduzido comparando-se as taxas de mortalidade do Brasil, Rio Grande do Sul e da Microrregião de Saúde de Ijuí que está localizada na Região Noroeste Colonial-RS. O período de análise foi de 1979 a 2003. As principais características demográficas, socioeconômicas e epidemiológicas dos quinze municípios que compõem a Microrregião são apresentadas na Tabela 1, incluindo a percentagem estimada de área geográfica que é utilizada no plantio de soja. Em termos geográficos a Região Noroeste-RS é um extenso planalto, que se inclina, num plano, para o Rio Uruguai, que, por sua vez, recorta o Estado ao norte e ao oeste, na fronteira com a Argentina. Esta região concentra uma área extensa área de plantio de soja. Considerando-se a produção média de 2001 a 2003, o Rio Grande do Sul é o terceiro maior produtor de soja do Brasil, com 16,8% do total produzido, semelhante média do período de 1998 até 2000 que era de 16,5%. Esta região produz soja intensivamente e outras culturas agrícolas principalmente desde a década de 70, o que caracteriza a região como cronicamente exposta aos agrotóxicos.

Tabela 1 Características demográficas, socioeconômicas e epidemiológicas da Região Noroeste Colonial do Estado do Rio Grande do Sul.

	Municípios			
	Ajuricaba	Alegria	Aug Pestana	Bozano
População -2005	7179	4667	7644	2158
Área -2005 (ha)	323200	172700	346400	201000
Área plantada com soja (ha)	19526	5967	18105	14242
% Área plantada com soja da área do Município	6,0	3,5	5,2	7,1
Densidade demográfica-2005 (hab/Km ²)	22,2	27	22	10,7
Taxa Analfabetismo- 2000 (%)	6,22	12,25	5,48	2,68
Expectativa de vida ao nascer-2000 (anos)	69,53	70,59	70,59	–
Coef. Mortalidade Infantil (/1000 nascidos vivos)	26,32	37,04	0,02	0,01
PIB per capita-2003 (R\$)	96.929	10.368	12.242	18.960

	Municípios			
	Chiapeta	Condor	Cel. Barros	Cel. Bicaco
População -2005	4336	6619	2346	7624
Área -2005 (ha)	396500	465200	162900	492100
Área plantada com soja (ha)	21770	25243	8770	28817
% Área plantada com soja da área do Município	5,5	5,4	5,4	5,9
Densidade demográfica-2005 (hab/Km ²)	10,9	14,2	14,4	15,5
Taxa Analfabetismo- 2000 (%)	8,84	7,18	5,16	74,2
Expectativa de vida ao nascer-2000 (anos)	68,22	71,47	72,71	68,37
Coef. Mortalidade Infantil (/1000 nascidos vivos)	20	25,97	0	13
PIB per capita-2003 (R\$)	15.489	19.808	16.697	12.546

	Municípios			
	Ijuí	Inhacorá	Nova Ramada	Panamby
População -2005	75422	2434	2518	33.824
Área -2005 (ha)	689100	114100	254900	490900
Área plantada com soja (ha)	32257	66,81	148,14	223,61
% Área plantada com soja da área do Município	4,7	0,1	0,1	0,0
Densidade demográfica-2005 (hab/Km ²)	109,4	21,3	9,9	68,9
Taxa Analfabetismo- 2000 (%)	5,68	17,26	9,39	4,35
Expectativa de vida ao nascer-2000 (anos)	69,14	73,75	70,59	72,61
Coef. Mortalidade Infantil (/1000 nascidos vivos)	11,43	0	0	12,57
PIB per capita-2003 (R\$)	9.856	11.138	19.004	16.745

	Municípios			
	Pejuçara	Sto. Augustc	S. ValérioSul	Total
População -2005	3887	13.056	2.663	21648
Área -2005 (ha)	414200	468000	10800	1043300
Área plantada com soja (ha)	257,44	242,47	50	57840
% Área plantada com soja da área do Município	0,1	0,1	0,5	3,3
Densidade demográfica-2005 (hab/Km ²)	9,4	27,9	24,7	27,2
Taxa Analfabetismo- 2000 (%)	6,33	11,05	16,69	12,85
Expectativa de vida ao nascer-2000 (anos)	70,58	68,22	68,22	70,3
Coef. Mortalidade Infantil (/1000 nascidos vivos)	18,8	22,6	15,15	14,494
PIB per capita-2003 (R\$)	23.604	12.736	7.989	20.274

Fontes: A partir do resumo estatístico da Fundação Estadual Economia e Estatística (FEEE). Área plantada de soja estimada por LANDSAT em Rizzi e Rudorff, 2005. O total equivale a somatórios e médias.

Foram coletados dados anuais de óbitos por câncer do Sistema do Departamento de Estatística do Sistema Único de Saúde (DATASUS, 2005), para o período entre 1979 e 2003 do Brasil, do estado do Rio Grande do Sul (RS) e região de Ijuí. Foram calculadas as taxas de mortalidade por 100 mil habitantes por ano e para cada região, separadas por sexo. Essas taxas foram padronizadas por faixas etárias, pelo método direto (Vitor et al. 2000), utilizando-se como referência os dados de população residente em cada região, sendo estes obtidos através de pesquisa do DATASUS, referentes ao Censo 2000. Foram utilizadas seis faixas etárias, sendo a primeira 20-29 anos e a última 60-79 anos. Para a análise estatística foi utilizado modelo de regressão linear simples, a fim de estimar os coeficientes das taxas de mortalidade padronizadas em cada uma dos locais, separados por sexo. A fim de comparar as diferenças entre os três locais, utilizou-se um modelo de regressão linear múltipla, em que se considerou como variável dependente a taxa de mortalidade padronizada e como variáveis independentes o tempo e os locais, como indicadoras, e as interações. O modelo utilizado teve a seguinte expressão:

$$Y_i = \beta_0 + \beta_1 X_{1i} + \gamma_0 X_{2i} + \delta_0 X_{3i} + \gamma_1 X_{1i} X_{2i} + \delta_1 X_{1i} X_{3i} + \varepsilon_i$$

onde, $X_{1i} = tempo$, $X_{2i} = \begin{cases} 1, & \text{se RS} \\ 0, & \text{c.c.} \end{cases}$ e $X_{3i} = \begin{cases} 1, & \text{se Ijuí} \\ 0, & \text{c.c.} \end{cases}$

Para todos os modelos foram feitos diagnósticos através da análise de resíduos. Os dados obtidos foram tratados nos programas Microsoft Excel 2000 e SPSS 13.0. Para as análises estatísticas, o nível de significância utilizado foi de 5%.

RESULTADOS

A Tabela 2 mostra os dados das populações masculinas, femininas e taxas médias de mortalidade padronizadas para idade para as áreas selecionadas: Brasil, Rio Grande do Sul e Ijuí, sendo que nos dados do Brasil foram excluídos os dados do Rio Grande do Sul e nos dados do Rio Grande do Sul foram excluídos os dados da região de Ijuí.

Tabela 2 – Superfície territorial, população e população feminina de 20-69 anos e taxa média de mortalidade por estado e Região Sul, 2000.

Locais	Pop. Masculina 20-79 anos**	Taxa média de mortalidade	Pop. Feminina 20-79 anos**	Taxa média de mortalidade
Brasil	45.209.742	81,75	48.112.693	64,86
RS	3.108.875	146,54	3.329.818	97,79
Ijuí	55.612	140,71	58.773	101,90
Total	48.374.229	123,00	51.501.284	88,18

Fonte: Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (<http://www.ibge.gov.br> Acesso em 24/07/2006). DATASUS (<http://www.datasus.gov.br> Acesso em 24/07/2006).

Na Figura 1 estão apresentados os dados das taxas de mortalidade por câncer para os homens. Pode-se perceber que o Rio Grande do Sul e Ijuí apresentam maior taxa de mortalidade padronizada em todos os anos investigados,

quando comparados com o Brasil. Provavelmente porque a região Sul exhibe altos níveis de industrialização e sua população revela os melhores indicadores de qualidade de vida do país, sendo o RS, o estado brasileiro com maior expectativa de vida (73,4 anos), superior à média brasileira de 69,0 anos. Os idosos (≥ 60 anos) representam aproximadamente 10% da população (FEE, 2005). Já a região de Ijuí tem as taxas de mortalidade abaixo das taxas do Rio Grande do Sul até metade da década de 90, quando torna-se semelhante e a partir de 2000 passa a ter taxa mais alta que a do Rio Grande do Sul. Também pode ser observado, que a tendência dos três locais é o aumento da taxa de mortalidade. Em todos os modelos de regressão simples ajustados, a variável tempo foi significativa ($p < 0,001$). Os ajustes foram bastante bons quando se verifica os coeficientes de determinação (R^2), sendo estes 0,973, 0,988 e 0,825, respectivamente, para Brasil, Rio Grande do Sul e Ijuí. Na Figura 2 são apresentados os dados das taxas de mortalidade por câncer para as mulheres. Pode-se perceber que o Rio Grande do Sul e Ijuí apresentam maior taxa de mortalidade padronizada em todos os anos investigados, quando comparados com o Brasil. Já a região de Ijuí tem as taxas de mortalidade abaixo das taxas do Rio Grande do Sul até o início da década de 90 (1992), quando rapidamente torna-se maior que a do Rio Grande do Sul. Também pode ser observado, que a tendência dos três locais é o aumento da taxa de mortalidade. Em todos os modelos de regressão simples ajustados, a variável tempo foi significativa ($p < 0,001$). Os ajustes foram bastante bons quando se verifica os coeficientes de determinação (R^2), sendo estes 0,976, 0,988 e 0,899, respectivamente, para Brasil, Rio Grande do Sul e Ijuí.

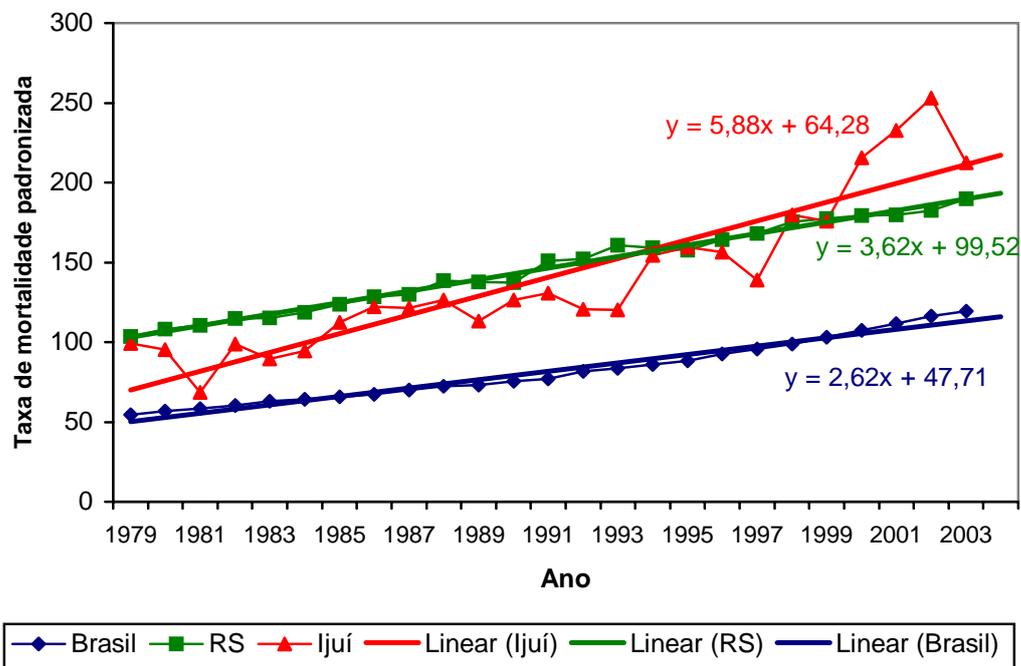


Figura 1 – Tendência da taxa de mortalidade por câncer para os homens, ajustada para tempo, no Brasil, no Rio Grande do Sul e Ijuí, no período de 1979 a 2003.

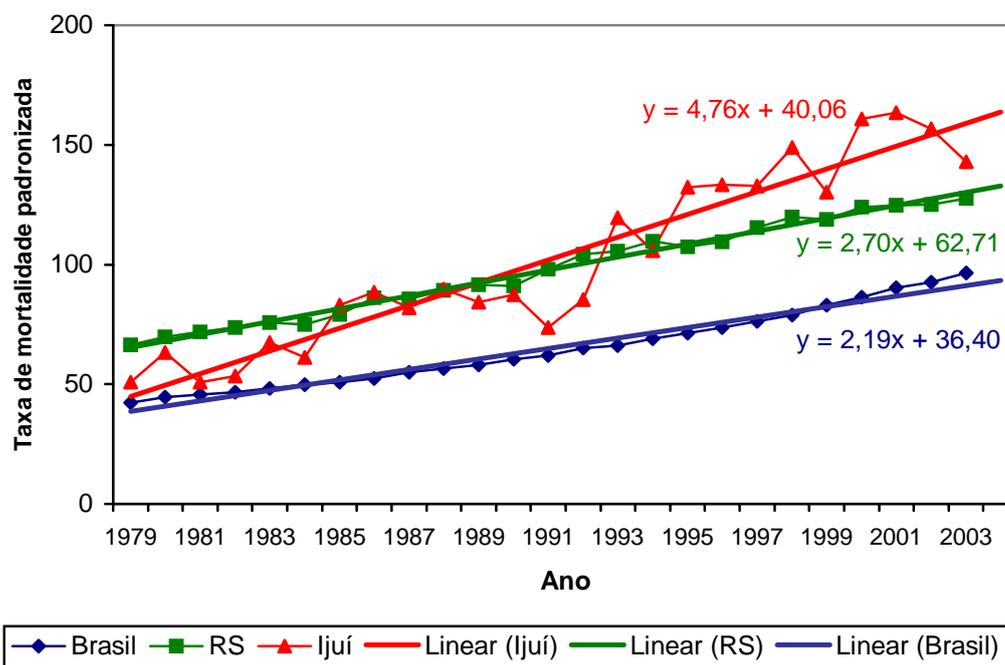


Figura 2 – Tendência da taxa de mortalidade por câncer para as mulheres, ajustada para tempo, no Brasil, no Rio Grande do Sul e Ijuí, no período de 1979 a 2003.

Também foram ajustados dois modelos de regressão simples (para sexo masculino e sexo feminino), considerando como variável dependente a taxa de mortalidade padronizada e como variável independente o tempo. Tais modelos apresentaram R^2 de 0,977 e 0,979, indicando bons ajustes. Para o sexo masculino o modelo teve a expressão $\text{taxa} = 55,25 + 2,89 \text{ ano}$ e para o sexo feminino, $\text{taxa} = 41,33 + 2,41 \text{ ano}$, sendo que “ano” foi significativo em ambos modelos ($p < 0,001$).

Nos modelos de regressão múltipla ajustados para sexo separadamente (Tabela 3), é possível se verificar que as interações tempo e local foram significativas ($p < 0,05$). Quanto ao local, no modelo para o sexo masculino verifica-se que tanto o

Rio Grande do Sul ($p=0,021$) como Ijuí ($p<0,001$) são significativamente diferentes do Brasil quanto a taxa de mortalidade por câncer. Já no modelo ajustado para o sexo feminino, somente o Rio Grande do Sul mostrou-se significativamente diferente do Brasil ($p<0,001$). Nos dois modelos, o tempo foi significativo ($p<0,001$), sendo que seu coeficiente estimado foi 2,619 para os homens e 2,082 para as mulheres, ou seja, a cada ano espera-se um aumento de 2,6 óbitos por câncer para os homens e 2,1 óbitos por câncer para as mulheres. Considerando-se a interação de tempo e local, essas taxas aumentam para 3,6 ($2,619+0,999$) óbitos de homens por câncer por ano em Ijuí, e 5,9 ($2,619+3,261$) óbitos de homens por câncer por ano no Rio Grande do Sul. Os coeficientes de determinação foram bastante bons em ambos modelos, indicando um bom ajuste dos modelos.

Tabela 3 – Resultados da regressão linear múltipla

Variável	Coeficiente	p	R ²
Modelo 1 – Sexo masculino			
Constante	47,705	<0,001	0,926
Tempo	2,619	<0,001	
Ijuí	51,810	<0,001	
Rio Grande do Sul	16,572	0,021	
Tempo*Ijuí	0,999	0,038	
Tempo*RS	3,261	<0,001	
Modelo 2 – Sexo feminino			
Constante	38,231	<0,001	0,945
Tempo	2,082	<0,001	
Rio Grande do Sul	24,476	<0,001	
Tempo*Ijuí	0,617	0,018	
Tempo*RS	2,783	<0,001	

DISCUSSÃO

Os resultados sugerem, na ordem em que são apresentados, que os homens têm uma mortalidade média por câncer maior do que as mulheres no Brasil, RS e Ijuí. Este fato pode ser explicado, em partes na RS por existir uma ideologia cultural em que o homem assume os trabalhos na lavoura e a mulher os trabalhos da casa, fazendo com que os homens fiquem diretamente mais expostos aos pesticidas e outros agentes carcinogênicos do que as mulheres.

Pode-se perceber que o Rio Grande do Sul e Ijuí apresentam maior taxa de mortalidade padronizadas tanto em homens quanto em mulheres em todos os anos investigados, quando comparados com o Brasil. Talvez isso possa ser explicado pelo fato de que a região Sul exhibe altos níveis de industrialização e sua população revela os melhores indicadores de qualidade de vida do país. O RS é o estado brasileiro com maior expectativa de vida (73,4 anos), superior à média brasileira de 69,0 anos. Os idosos (≥ 60 anos) representam aproximadamente 10% da população. Quanto às taxas de mortalidade de Ijuí estarem abaixo das taxas do Rio Grande do Sul até metade da década de 90 e a partir de 2000 passar a ter taxa mais alta que a do Rio Grande do Sul pode estar associado ao aumento significativo na demanda de alimentos fazendo com que a produção aumente também. Quando foi visto separadamente os sexos, as interações tempo e local, o sexo masculino diferiu do Brasil quanto à taxa de mortalidade por câncer no RS e em Ijuí pela semelhança demográfica epidemiológica do RS com países desenvolvidos.

É importante ressaltar que neste estudo o RS, apesar de partir de um patamar

mais elevado, apresenta uma taxa média de 47,7 para os homens e 38,2 para as mulheres de mortalidade significativamente maior que os outros dois estados ($p < 0,001$). Esses dados denotam, entre outros aspectos, tendência crescente da incidência desta doença associada ao uso de pesticidas que contenham organoclorados. Este estudo logo abre perspectivas para novos estudos que busquem associar o uso de agrotóxicos e câncer para que nossos achados possam ser reforçados.

CONTRIBUIÇÕES AUTORAIS

Paulo Fernandes Costa Jobim: Coordenou a confecção do artigo, buscando os dados para análise, fazendo a revisão da literatura e colocando nos moldes para publicação, além de revisar.

Ivana Beatrice Mânica da Cruz: Coordenou a confecção do artigo revisando periodicamente o trabalho do primeiro autor e auxiliando na revisão.

Luciana Neves Nunes: Realizou as análises estatísticas e confecção dos resultados.

Roberto Giugliani: Auxílio na revisão do artigo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Brouwer D.H. Estimation of long-term exposure to pesticides. *Am. J. Ind. Med.* 25:573-588, 1994.
2. da Silva J.M., Novato - Silva, E., Faria, H.P., Pinheiro, T.M.M. Agrotóxico e trabalho: uma combinação perigosa para a saúde do trabalhador rural. . *Ciênc. saúde coletiva* 10(4), 2005.
3. DATASUS. <http://www.datasus.gov.br> 2005.
4. FEE. www.fee.gov.br, 2005.
5. Garcia E.G. Segurança e Saúde no trabalho rural com agrotóxicos: contribuição para uma abordagem mais abrangente. São Paulo: Universidade de São Paulo; 1996.
6. Gehlen I. Políticas públicas e desenvolvimento social rural. . *São Paulo em Perspectiva* 18(2):95-103, 2004.
7. Grisolia C.K. Agrotóxicos: mutações, câncer & reprodução. Brasília, Universidade de Brasília, 2005.

8. Hashimoto E.M. Estudo cromossômico em linfócitos de aplicadores de inseticidas. São José do Rio Preto: UNESP; 1990.
9. IBGE. Censo demográfico 2000: características gerais da população. IBGE, 2000.
10. OIT. Agricultura y sectores basados en recursos biológicos. Enciclopedia de Salud y Seguridad en el Trabajo, 2001, pp. 64.62- 64.77.
11. Páldy A. Cytogenetic studies on rural populations exposed to pesticides. Mut. Res. 187:127-132, 1987.
12. Ritter L. Report of a panel on the relationship between public exposure to pesticides and cancer. Cancer 80:2019-2033, 1997.
13. Schoenbach V.J. Understanding the fundamentals of epidemiology: an evolving text., Understanding the fundamentals of epidemiology: an evolving text., 2000.
14. Sharp D.S. Delayed health hazards of pesticide exposure. . Ann. Rev. Public Health 7:441-471, 1986.
15. SINDAG. In: Agrícola S.N.d.I.d.P.p.a.D. (Ed). Sindicato Nacional da Indústria

de Produtos para a Defesa Agrícola, 2005.

16. Telang S. Epigenetic membrane effects of a possible tumor promoting type on cultured liver cells by the non-genotoxic organochlorine pesticides chlordane and heptachlor. *Carcinogenesis* 3:1175-1178, 1982.
17. Yoder J. Lymphocyte chromosome analysis of agricultural workers during extensive occupational exposure to pesticides. . *Mut. Res.* 21:335-340, 1973.

8.3. Segundo artigo da produção científica 2005

Câncer de Mama – Mortalidade Crescente nos Três Estados da Região Sul do Brasil entre 1980 e 2002.

Breast Cancer – Increasing Mortality in Southern Brazil from 1980 to 2002.

Andrea T. Cadaval Gonçalves¹, Paulo Fernandes Costa Jobim¹, Roberta Vanacor¹,
Luciana Neves Nunes^{1,3}, Isabella Martins de Albuquerque^{1,2} e Mary Clarisse
Bozzetti¹

- 1- Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brasil.
- 2- Departamento de Educação Física e Saúde, Universidade de Santa Cruz do Sul, Santa Cruz do Sul, Brasil.
- 3- Departamento de Estatística, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brasil.

Endereço para correspondência

Luciana Neves Nunes
Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Instituto de Matemática
Departamento de Estatística
Av. Bento Gonçalves, 9500
Bairro Agronomia
Porto Alegre – RS CEP: 91509-900

Resumo

O câncer de mama (CM) é apontado como o tipo de câncer mais prevalente no mundo. No Brasil as taxas de mortalidade por CM continuam elevadas, observando-se diferenças inter-regionais. Foi realizado um estudo ecológico de série temporal (1980 a 2002) na Região Sul, com dados anuais do Sistema do Departamento de Estatística do Sistema Único de Saúde (DATASUS), para avaliar o comportamento do coeficiente de mortalidade por CM, padronizado por idade. Utilizou-se um modelo de regressão linear simples e múltipla para estimar, respectivamente, as taxas de mortalidade e as diferenças entre os três estados. O Rio Grande do Sul (RS) parte de um patamar mais elevado e apresenta maior taxa média de mortalidade (14,45), sendo significativamente diferente ($p < 0,001$) quando comparado com Santa Catarina (8,93) e Paraná (9,95). Em todos os estados observou-se um aumento anual de 0,47 óbitos na taxa de mortalidade por câncer de mama, independente do estado. Concluímos que há uma tendência similar de aumento da mortalidade por CM nos três estados da Região Sul do Brasil, com índices significativamente maiores no RS, sendo necessária a identificação dos fatores relacionados a este quadro alarmante e o estabelecimento de medidas efetivas a fim de reverter estes números.

Câncer de mama; mortalidade; epidemiologia, tendência linear.

Abstract

The most prevalent cancer in the world is the breast cancer (BC). The calculated mortality ratio of this disease is high in Brazil and striking variations have been observed by geographic regions. A time-trend ecological study was performed in Southern Region of Brazil from 1980 to 2002. Data were collected from the Mortality Information System, Brazilian Ministry of Health (DATASUS), to standardized age-corrected mortality ratios. Linear regression for mortality time-trend analysis and multiple regression for mortality differences among three States were calculated. The highest median mortality rate (14,45) were observed in Rio Grande do Sul (RS) that was significantly greater ($p < 0,001$) than Santa Catarina (8,93) and Paraná (9,95). An upward trend of 0,47 in the mortality rates was observed in the three states of the Southern Region of Brazil. This result shows that the Brazilian Southern Region, and specially the State of Rio Grande do Sul, presented a significant increasing trend of BC mortality rates. Continued efforts are needed to provide explanations for these numbers and to revert the present situation.

Breast cancer; mortality; epidemiology, linear trend.

Introdução

Nas estimativas globais do ano de 2002¹ o câncer de mama é considerado o mais prevalente em todo o mundo, sendo também a principal causa de morte por câncer e o tipo mais freqüente entre as mulheres (23% de todas as neoplasias). Estima-se 1,15 milhões de novos casos no mundo, ocupando o segundo lugar geral quando ambos os sexos são considerados conjuntamente, e 411 mil mortes no mesmo período.

Observaram-se nas últimas décadas no Brasil e no mundo importantes mudanças sócio-demográficas, com alteração da estrutura etária e das taxas de fecundação, com conseqüente envelhecimento populacional. Sabe-se que o risco de morte por câncer aumenta com a idade². Com isso, ocorreram modificações na distribuição dos óbitos segundo a causa básica de morte.

O Instituto Nacional do Câncer (INCA) estimou em 49.470 o número de casos novos de câncer de mama no Brasil em 2005, com um risco estimado de 53 casos a cada 100 mil mulheres. Na região Sudeste, o câncer de mama é o mais incidente entre as mulheres com um risco estimado de 73 casos novos por 100 mil. Sem considerar os tumores de pele não-melanoma, este tipo de câncer também é o mais freqüente nas mulheres das regiões Sul (71/100.000), Centro-Oeste (38/100.000) e Nordeste (27/100.000)³.

O prognóstico do câncer de mama é relativamente bom se diagnosticado nos estádios iniciais. Estima-se que a sobrevida média geral cumulativa, após cinco anos, seja de 65% nos países desenvolvidos e de 56% nos países em

desenvolvimento. Na população mundial, a sobrevida média após cinco anos é de 61%. No Brasil, as taxas de mortalidade por câncer de mama continuam elevadas².

Em relação ao diagnóstico precoce, ensaios clínicos randomizados têm demonstrado que a mamografia de rastreamento para mulheres de 40 a 79 anos pode reduzir a mortalidade, sendo o maior impacto encontrado na faixa etária de 50 a 69 anos, com redução da mortalidade em torno de 25% neste grupo⁴. Embora estes achados tenham sido contestados em algumas metanálises recentemente publicadas^{5,6}.

Além da idade, história prévia ou familiar de câncer de mama ou ovário, biópsias de mama e da presença de mutação nos genes BRCA 1 e 2⁷, vários outros fatores de risco tem sido levantados^{6,8}. Entretanto, não existem medidas práticas específicas de prevenção primária do câncer de mama, aplicáveis à população. Estudos observacionais têm sugerido que a prevenção do tabagismo, alcoolismo, obesidade e sedentarismo e o incentivo ao aleitamento materno reduzem o risco de câncer de mama². No entanto, os avanços tecnológicos mais importantes têm sido direcionados para o diagnóstico precoce e o para o tratamento^{2,5,8}.

O objetivo deste trabalho é avaliar o comportamento do coeficiente de mortalidade por câncer de mama em mulheres nos três estados da região sul do Brasil, padronizado por idade, utilizando um modelo de série temporal, entre os anos de 1980 a 2002.

Métodos

Foi realizado um estudo ecológico de série temporal, sendo coletados dados anuais do Sistema do Departamento de Estatística do Sistema Único de Saúde (DATASUS)¹, para o período entre 1980 a 2002, da Região Sul, por unidade de federação dos estados do Rio Grande do Sul, Santa Catarina e Paraná. Foram calculadas as taxas de mortalidade por 100 mil habitantes do sexo feminino por ano e para cada estado. Essas taxas foram padronizadas por faixas etárias, pelo método direto¹⁰, utilizando-se como referência os dados de população residente em cada estado, sendo estes obtidos através de pesquisa do DATASUS, referentes ao Censo 2000. Foram utilizadas cinco faixas etárias, 20-29 anos, 30-39 anos, 40-49 anos, 50-59 e 60-69 anos. Para a análise estatística utilizou-se modelo de regressão linear simples, a fim de estimar os coeficientes das taxas de mortalidade padronizadas em cada um dos estados. A fim de comparar as diferenças entre os três estados, utilizou-se um modelo de regressão linear múltipla, em que se considerou como variável dependente a taxa de mortalidade padronizada e como variáveis independentes o tempo e os estados.

Para todos os modelos foram feitos diagnósticos através da análise de resíduos. Os dados obtidos foram tratados nos programas Microsoft Excel 2000 e SPSS 12.0. Para as análises estatísticas, o nível de significância utilizado foi de 5%.

Resultados

A Região Sul do Brasil, formada pelos estados do Rio Grande do Sul (RS), Paraná (PR) e Santa Catarina (SC) tem os dados de áreas geográficas, populações e taxas médias de mortalidade por câncer de mama padronizadas para idade, apresentados conforme tabela 1. Através da Figura 1, pode-se perceber que o RS apresenta maior taxa de mortalidade padronizada em todos os anos investigados, quando comparados com os estados de SC e PR, sendo que o RS já parte de um patamar mais elevado que os demais. Já os estados de SC e PR têm taxas de mortalidade bastante semelhantes.

Para todos os estados foram ajustadas retas de regressão linear simples e a tendência é de aumento da taxa de mortalidade nos três locais, pois os coeficientes de inclinação nas três retas foram positivos e significativos (figura 1). Ou seja, espera-se um aumento de 0,42, 0,41 e 0,47 óbitos a cada ano na taxa de mortalidade por câncer de mama, respectivamente, nos estados de RS, SC e PR. Os ajustes dos modelos foram consistentes quando se verificaram os coeficientes de determinação (R^2), sendo estes 0,96, 0,95 e 0,98, respectivamente, para RS, SC e PR.

O modelo $Taxa = 3,95 + 0,47tempo + 5,42RS + 0,36SC - 0,05tempo*RS - 0,05tempo*SC$ foi obtido através da regressão linear múltipla e somente a constante e os coeficientes de tempo e RS foram significativos. Portanto, é possível dizer que o RS é significativamente diferente de Santa Catarina e Paraná ($p < 0,001$), o que é equivalente a dizer que a taxa média de mortalidade do RS (14,45, Tabela 1) é

diferente das taxas médias de SC e PR (8,93 e 9,95, respectivamente). Quando ajustado para os estados, o coeficiente do tempo foi significativo ($p < 0,001$), portanto estima-se que a cada ano haja um aumento de 0,47 óbitos na taxa de mortalidade por câncer de mama, independente do estado. Não houve interação entre tempo e estados, observando-se que as retas de regressão são paralelas (Figura 1), ou seja, a inclinação é aproximadamente a mesma para todos os estados. O coeficiente de determinação do modelo múltiplo foi 0,98, indicando um ótimo ajuste do modelo.

Tabela 1 – Superfície territorial, população e população feminina de 20-69 anos e taxa média de mortalidade por estado e Região Sul, 2000.

Estados	Superfície territorial (km ²)*	População**	População Feminina 20-69 anos**	Taxa média de mortalidade
Rio Grande do Sul	281.748	10.187.798	3.131.587	14,45
Santa Catarina	95.346	5.356.360	1.579.236	8,93
Paraná	199.314	9.563.458	2.828.121	9,95
Total Região Sul		25.107.616		11,11

Fonte: *Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (<http://www.ibge.gov.br> Acesso em 10/09/2005). **DATASUS (<http://www.datasus.gov.br> Acesso em 10/09/2005).

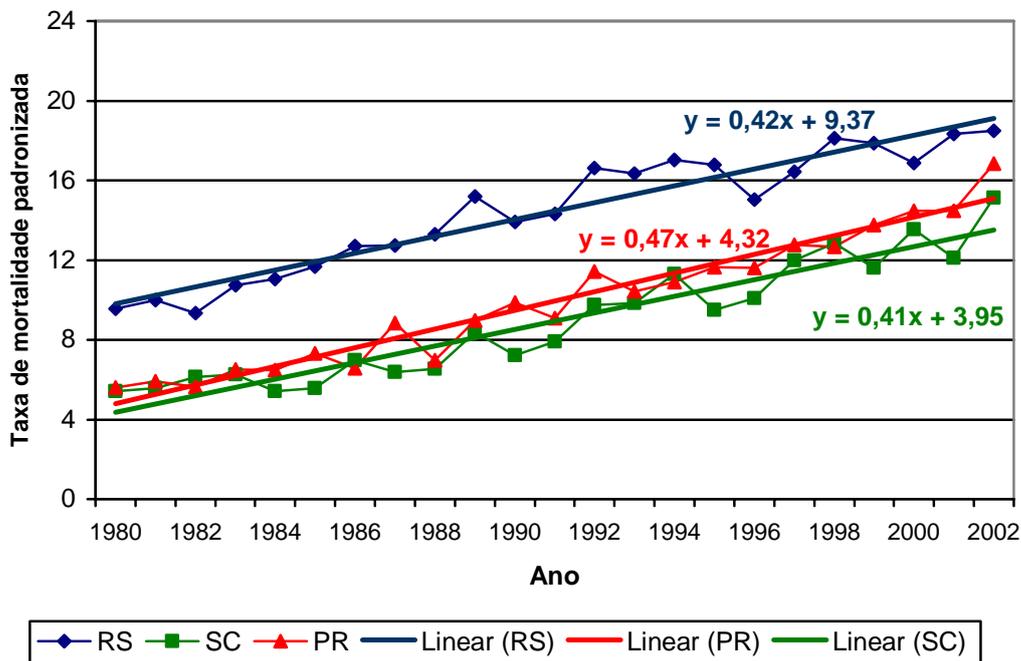


Figura 1 – Tendência da taxa de mortalidade, ajustada para tempo, para câncer de mama, nos estados do Rio Grande do Sul, Santa Catarina e Paraná, no período de 1980 a 2002.

Discussão

Os resultados indicam que há tendência de aumento da mortalidade por câncer de mama nos três estados da Região Sul do Brasil, com taxa de 0,47 de aumento de óbitos por ano, independente do estado. É importante ressaltar que o RS parte de um patamar mais elevado, apresentando uma taxa média (14,45) de mortalidade significativamente maior que os outros dois estados ($p < 0,001$). Esses dados podem ser conseqüentes à tendência crescente da incidência desta doença associada à deficiência no diagnóstico precoce, terapêutica e seguimento inadequados¹¹. Entretanto, os potenciais fatores determinantes destas diferenças encontradas entre os três estados avaliados neste estudo são de difícil identificação

na literatura³.

Observa-se no Brasil e no mundo aumento da incidência do câncer de mama. De acordo com as estimativas do ano de 2005, apresentadas pelo INCA, a taxa bruta por 100 mil habitantes no RS (91,43) representa quase o dobro que SC (54,88) e Paraná (57,72)³. De acordo com Parkin *et al*¹ as estimativas globais exibem que a incidência desta doença, na maioria dos países, supera algumas previsões, com um aumento anual de cerca de 0,5% desde 1990. Entretanto, existe uma variabilidade entre as taxas de mortalidade por câncer de mama no mundo, observando-se redução da mortalidade nos países desenvolvidos e aumento nos países em desenvolvimento, como é o caso do Brasil¹. Sabe-se que, diferente de alguns países desenvolvidos, o Brasil não dispõe de um programa organizado de rastreamento do câncer de mama.

A região Sul compreende 7% do espaço territorial total do Brasil, exibe altos níveis de industrialização e sua população revela os melhores indicadores de qualidade de vida do país. O RS é o estado brasileiro com maior expectativa de vida (73,4 anos), superior à média brasileira de 69,0 anos. Os idosos (≥ 60 anos) representam aproximadamente 10% da população¹². Entre 1980 e 1995, a mortalidade feminina por câncer de mama aumentou em todas as regiões, mas o risco de morte no Sul e no Sudeste é pelo menos duas vezes maior do que nas outras regiões¹³. Estes dados levam a crer que a carência de um programa de rastreamento numa população, na qual se observa envelhecimento e melhor qualidade de vida, pode ser uma das hipóteses para explicar os achados do presente estudo.

Parece haver semelhança nas taxas de incidência de câncer de mama na região Sul do Brasil com grande parte dos países da Europa¹⁴. Existem alguns possíveis fatores de risco em comum, observados nestas regiões, como o predomínio da raça branca, menor número médio de filhos, gestações iniciadas em idades mais avançadas, melhor nível socioeconômico e maior uso de terapia de reposição hormonal^{13, 15}. Contudo, as taxas de incidências de câncer de mama são mais elevadas no RS do que nos outros dois estados do sul do Brasil³ e estas diferenças podem refletir heterogeneidade de perfis de exposição a fatores de risco e de modos de vida e fatores genéticos ainda não totalmente identificados. Entretanto, até o momento não existem dados consistentes na literatura para esclarecer tais suposições.

Porto Alegre, capital do RS, registra a mais alta incidência de câncer de mama quando comparada às demais capitais da região sul e do país. De acordo com dados do INCA³, em Porto Alegre a taxa bruta de incidência estimada para 2005 é de 151,66 em 100 mil mulheres, já para Florianópolis (SC), 87,81 e Curitiba (PR), 85,75. Observaram-se também dados de óbito por ocorrência mais elevados nas capitais da Região Sul do que óbitos por residência. Isto revela, muito provavelmente, a significativa tendência a transferência de pacientes mais graves ou mesmo em fases terminais para o atendimento médico nas capitais⁹.

O prognóstico do câncer de mama é bom especialmente se diagnosticado em fases precoces (estágios I e II) e tratado de acordo com os protocolos atuais. Porém, no Brasil cerca de metade dos tumores de mama são diagnosticados nos estádios III e IV⁷, o que pode estar diretamente relacionado à falta de um programa de

rastreamento, que inclua a realização de exame clínico das mamas, mamografia anual e a identificação de grupos populacionais com risco elevado para o desenvolvimento do câncer de mama. A mamografia, como método para rastreamento, é uma medida de impacto na redução da mortalidade especialmente em mulheres de 50 a 69 anos¹⁶. Sabe-se ainda que, além da necessidade de médico radiologista habilitado para a interpretação de laudos mamográficos, a qualidade técnica deste exame é fundamental na redução dos casos de falsos negativos¹⁷.

O Inquérito Domiciliar sobre Comportamentos de Risco e Morbidade Referida de Doenças e Agravos não Transmissíveis, do Ministério da Saúde, desenvolvido pelo INCA em parceria com a Secretaria de Vigilância em Saúde, mostrou que para as 16 localidades brasileiras analisadas (15 capitais e o Distrito Federal) a cobertura estimada de realização de mamografia variou entre 37% e 76%. Entretanto, o percentual de realização deste exame pelo SUS variou entre 17% e 54% do total³. A cobertura insuficiente e a dificuldade no controle e na avaliação dos serviços de mamografia disponíveis pelo SUS retardam o diagnóstico do câncer de mama.

Em relação ao tratamento do câncer de mama, a maioria das pacientes pode ser submetida a cirurgias conservadoras, radioterapia local, terapias hormonais e quimioterapia, resultando em redução de mortalidade em torno de 25% a 50%¹⁸. Observa-se que, cada vez mais, surgem novas opções, como por exemplo: o uso de tamoxifeno profilático para pacientes de alto risco, novos agentes citotóxicos e progressos no entendimento da biologia tumoral que permitem a identificação de tumores mais agressivos ou resistentes à quimioterapia¹⁷. É evidente que esses avanços não estão disponíveis a toda a população. De acordo com estatísticas norte-

americanas, a mortalidade em afro-americanas é maior que nas brancas. No entanto, quando o tratamento recebido é semelhante, esta disparidade desaparece¹⁹. A diferença nas taxas de mortalidade encontrada entre os estados e a tendência ao aumento na mortalidade nos três estados referidas no presente estudo também podem estar relacionadas a variações dos tratamentos oferecidos a estas pacientes. Estudos avaliando a efetividade da terapêutica do câncer de mama utilizada na Região Sul bem como do seguimento dessas pacientes após o tratamento adjuvante são fundamentais.

A Região Sul, em especial o RS, exhibe estatísticas alarmantes e com tendência a piora na mortalidade do câncer de mama. Ao contrário de alguns países desenvolvidos, percebemos que o estado que apresenta a maior incidência de câncer de mama, o RS, é justamente aquele com maior taxa média de mortalidade por esta doença. Esses dados apontam para a necessidade urgente de novas pesquisas que elucidem os fatores determinantes da alta incidência e da elevada mortalidade nessas regiões.

Além disso, a demonstração de incidência e mortalidade crescentes, em diferentes proporções nos estados de uma mesma região, é de grande importância para o direcionamento de estratégias e políticas de assistência à saúde para o controle do câncer de mama no Brasil.

Referências Bibliográficas

1. Parkin MD, Bray F, Ferlay J, Pisani P. Global Cancer Statistics, 2002. *CA Cancer J Clin* 2005;55;74-108. <http://caonline.amcancersoc.org/cgi/content/full/55/2/74> (acessado em 06/set/2005).
2. Curi Hallal, AL, Gotlieb SLD, Latorre MRDO. Evolução da mortalidade por neoplasias malignas no Rio Grande do Sul, 1979-1995. *Rev. Bras. Epidemiol* 2001; 4:169-177.
3. Instituto Nacional do Câncer. Estimativa | 2005 Incidência de Câncer no Brasil. <http://www.inca.gov.br/estimativa/2005/versaofinal.pdf> (acessado em 06/set/2005).
4. Nyström L, Andersson I, Bjurstam N, Frisell J, Nordenskjöld B, Rutqvist LE. Longterm effects of mammography screening: updated overview of the Swedish randomized trials. *Lancet* 2002; 359:909-19. Erratum, *Lancet* 2002; 360:724.
5. Olsen O, Gøtzsche PC. Cochrane review on screening for breast cancer with mammography. *Lancet* 2001; 358:1340-2.

6. Fletcher SW, Elmore JG. Clinical practice: mammographic screening for breast cancer. *N Engl J Med.* 2003; 348:1672-1680.
7. Struewing JP, Hartge P, Wacholder S, Baker SM, Berlin M, McAdams M, et al. The risk of cancer associated with specific mutations of BRCA1 and BRCA2 among Ashkenazi Jews. *N Engl J Med* 1997; 336:1401-8.
8. Schwartzmann G. Breast Cancer in South America: Challenges to Improve Early Detection and Medical Management of a Public Health Problem. *Journal of Clinical Oncology* 2001; 19:118-124.
9. Sistema do Departamento de Estatística do Sistema Único de Saúde (DATASUS). <http://www.datasus.gov.br> (acessado em 25/ago/2005).
10. Schoenbach JV. Understanding the fundamentals of epidemiology: an evolving text. <http://www.epidemiolog.net/evolving/> (acessado em 19/set/2005).
11. Moraes AB, Zanini RR, Turchiello MS, Riboldi J, Medeiros LR. Estudo da sobrevivência de pacientes com câncer de mama atendidas no hospital da Universidade Federal de Santa Maria, Rio Grande do Sul, Brasil. *Cad. Saúde Pública* 2006; 22: 2219-2228.

12. Fundação de Economia e Estatística, FEE. <http://fee.gov.br> (acessado em 17/set/2005)
13. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, IBGE. <http://www.ibge.gov.br> (acessado em 17/set/2005)
14. Ward E, Jemal A, Cokkinides V, et al. Cancer disparities by race/ethnicity and socioeconomic status. *CA Cancer J Clin* 2004; 54:78-93.
15. Wünsch Filho V E Moncau Je. Mortalidade Por Câncer No Brasil 1980-1995: Padrões Regionais e Tendências Temporais. *Rev Assoc Med Bras* 2002; 48: 250-7.
16. Elmore JG, Armstrong K, Lehman CD, Fletcher SW. Screening for breast cancer. *JAMA* 2005; 293:1245-1256.
17. Taplin et al. Screening Mammography: Clinical Image Quality and the Risk of Interval Breast Cancer. *AJR* 2002; 178:797-803.
18. Hortobagyi GN. Treatment Of Breast Cancer. *N Engl J Med* 1998; 339:974-84.

19. Wojcik BE, Spinks MK, Optenberg SA. Breast carcinoma survival analysis for African American and white women in an equalaccess health care system. *Cancer* 1998; 82:1310-1318.