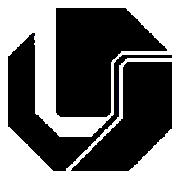


UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
FACULDADE DE ENGENHARIA ELÉTRICA
PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA ELÉTRICA



Análise de Correlações entre Tremor, Degeneração Celular e Idade

Paulo Henrique Garcia Mansur

Maio

2011

Análise de Correlações entre Tremor, Degeneração Celular e Idade

Paulo Henrique Garcia Mansur

Texto da tese apresentada à Universidade Federal de Uberlândia como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Ciências.

Prof. Adriano de O. Andrade, PhD
Orientador

Prof. Dr. Alexandre Cardoso
Coordenador do curso de Pós-Graduação

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
FACULDADE DE ENGENHARIA ELÉTRICA
PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA ELÉTRICA

Análise de Correlações entre Tremor, Degeneração Celular e Idade

Paulo Henrique Garcia Mansur

Texto da tese apresentada à Universidade Federal de Uberlândia, perante a banca de examinadores abaixo, como parte dos requisitos necessários para a obtenção do título de Doutor em Ciências.

Banca Examinadora:

Prof. Adriano de Oliveira Andrade, PhD – Orientador (UFU)

Prof. Eduardo Lázaro Martins Naves, DSc (UFU)

Prof. Nilson Penha Silva, DSc (UFU)

Profa. Sandra Maria Sbeghen Ferreira de Freitas, DSc (UNICID)

Prof. César Ferreira Amorim, DSc (UNICID)

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Sistema de Bibliotecas da UFU, MG, Brasil.

M289a Mansur, Paulo Henrique Garcia, 1977-

Análise de correlações entre tremor, degeneração celular e
idade [manuscrito] / Paulo Henrique Garcia Mansur. - 2011.

72 f. : il.

Orientador: Adriano de O. Andrade.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Uberlândia, Programa de Pós-Graduação em Engenharia Elétrica.

Inclui bibliografia.

1. Tremor (Medicina) - Teses. 2. Idosos - Doenças - Teses.
3. Envelhecimento - Teses. I. Andrade, Adriano de Oliveira. II.
Universidade Federal de Uberlândia. Programa de Pós-Graduação em Engenharia Elétrica. III. Título.

CDU: 616.8-009.1

“É a esperança que nos leva a crer que o impossível pode ser realizado com nossa força, esforço e persistência.”

Autor desconhecido.

Dedico este trabalho à minha esposa Luciana Rodrigues Lopes Mansur, meus filhos, Matheus Lopes Mansur e Isabela Lopes Mansur e a todas as pessoas que contribuíram de alguma forma para o meu crescimento pessoal e profissional.

AGRADECIMENTOS

A DEUS, por sempre estar presente em minha vida e permitir que meus sonhos fossem realizados.

Agradeço à minha família, em especial à minha querida esposa Luciana pela confiança, ajuda e apoio durante todos estes anos.

Ao meu Orientador Professor Doutor Adriano de Oliveira Andrade pela amizade, incentivo, confiança durante a realização deste trabalho, e os conhecimentos transmitidos. Meu eterno agradecimento.

Ao Professor Doutor Nilson Penha Silva, pela oportunidade de aprender com seus ensinamentos. Sempre comprometido e disposto a ajudar. Sua conduta ética, sua integridade e boa vontade serão ensinamentos que me acompanhará eternamente. Muito obrigado pela confiança e pelos conhecimentos, os quais foram fundamentais para o meu crescimento científico e profissional. Minha eterna gratidão.

Ao Professor Doutor Alcimar Barbosa Soares pelo incentivo e confiança.

Ao meu amigo Lacordaire Kemel Pimenta Cury não só pela companhia de vários anos, mas também pelo auxílio no desenvolvimento do trabalho, pela paciência em me escutar nos momentos complicados que um pós-graduando vivencia.

Ao colega de trabalho Júlio César Ferreira, por dispor de seu tempo, colaborando e esclarecendo minhas dúvidas em relação às estatísticas.

Ao doutor Lurymi Takaschi Bordão e a doutora Jaqueline Ribeiro Barbosa Bordão pela ajuda e compreensão da terminologia na área médica.

Aos colegas do Laboratório de Engenharia Biomédica (Biolab) meu obrigado pela colaboração e ajuda para a realização desta pesquisa.

Aos colegas do Laboratório de Enzimologia, em especial ao colega José Otávio Batista Leites, obrigado pela ajuda na realização desta pesquisa.

Aos funcionários, enfermeiros(as), médicos(as) e residentes do Hospital de Clínicas de Uberlândia (HCU)/UFU que nos auxiliaram na coleta dos dados.

Aos Professores e Funcionários do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Elétrica pela presteza as informações e, sobretudo, pela amizade que construímos durante estes anos.

Aos meus pais, Carlos Melém Mansur e Lazara Garcia Mansur, e a meus irmãos, Viviane Garcia Mansur e José Ricardo Garcia Mansur pelo apoio.

A todos que de alguma forma contribuíram para que este trabalho fosse concretizado.

Resumo

MANSUR, P. H. G.; ANDRADE, A. O.; PEREIRA, A. A. Análise da Correlação entre Tremor, Degeneração Celular e Envelhecimento. FEELT-UFU, Uberlândia, 2011, 72p.

O principal problema do tremor é o prejuízo causado à qualidade de vida do paciente, principalmente aqueles de idade mais avançada. Ainda não há um consenso sobre a origem desse distúrbio, mas ela pode ser investigada nas correlações entre os sinais biológicos do envelhecimento e as características do tremor. Este trabalho pesquisa a ocorrência de correlações entre a fragilidade osmótica de eritrócitos e as características dos sinais eletromiográficos do tremor em voluntários saudáveis ($N = 44$) de diferentes faixas etárias (24-87 anos). A fragilidade osmótica foi avaliada espectrofotometricamente pela dependência da hemólise, dada pela absorvância em 540 nm (A_{540}), contra a concentração de NaCl. Os dados foram ajustados a curvas de regressão sigmoideal e caracterizados pelo ponto de meia-transição (H_{50}), amplitude da transição de lise (dx) e valores de A_{540} nas regiões da curva onde os eritrócitos estão lisados (A_1) ou íntegros (A_2). A amplitude, frequência e entropia aproximada do tremor foram avaliadas a partir dos sinais eletromiográficos adquiridos por eletrodos de superfície colocado no músculo extensor ulnar do carpo gerados por uma caneta laser colocada na mão de cada indivíduo em uma espiral de Arquimedes e também por dados coletados por um acelerômetro, posicionado na ponta da caneta. As avaliações foram feitas com a caneta laser em repouso no centro da espiral e em movimento do centro para fora e de fora para o centro. Foram testadas correlações entre os parâmetros da fragilidade osmótica, tremor, sexo e idade. Foram encontradas correlações negativas entre A_1 e dx com a idade. Uma correlação positiva com H_{50} foi encontrada entre a entropia aproximada do tremor com a mão em repouso. Correlações negativas com H_{50} foram encontradas para a entropia do tremor com a mão em movimento tanto do centro para fora quanto de fora para o centro da espiral. Em indivíduos neurologicamente saudáveis, o aumento da fragilidade osmótica de eritrócitos foi associado a um aumento da entropia do tremor em repouso e a uma diminuição da entropia do tremor em movimento. Isso sugere que a degeneração neuromuscular associada ao tremor está vinculada ao mesmo mecanismo de ruptura da homeostase da membrana dos eritrócitos.

Palavras-chave: Tremor, Envelhecimento, Fragilidade Osmótica.

Abstract

MANSUR, P. H. G.; ANDRADE, A. O.; PEREIRA, A. A. Analysis of Correlation Between Tremor, Cellular Degeneration and Aging. FEELT-UFU, Uberlândia, 2011, 72p.

The main problem of tremor is the damage caused to the quality of the life of patients, especially those at more advanced ages. There is not a consensus yet about the origins of this disorder, but it can be examined in the correlations between the biological signs of aging and the tremor characteristics. This work sought correlations between the osmotic fragility of erythrocytes and features extracted from electromyographic (EMG) activity resulting from physiological tremor in healthy volunteers (N=44) at different age groups (24-87 years). The osmotic fragility was spectrophotometrically evaluated by the dependence of hemolysis, provided by the absorbance in 540 nm (A_{540}), on the concentration of NaCl. The data were adjusted to curves of sigmoidal regression and characterized by the half transition point (H_{50}), amplitude of lysis transition (dx) and values of A_{540} in the curve regions that characterize the presence of lysed (A_1) and preserved erythrocytes (A_2). The amplitude, frequency and approximate entropy was estimated from EMG signals detected with surface electrodes fixed on the extensor carpi ulnaris muscle during the movement of the hand of subjects holding up a laser pen towards an Archimedes spiral, fixed in a whiteboard, and from an accelerometer fixed at the pen. The evaluations were carried out with the laser pen at rest, at the center of the spiral, and in movement from the center to the outside and from outside to the center. The correlations among the parameters of osmotic fragility, tremor, gender and age were tested. Negative correlations with age were found for A_1 and dx . With the hand at rest, a positive correlation with H_{50} was found for the approximate entropy. Negative correlations with H_{50} were found for the entropy with the hand in movement, as from the center to the outside or from the outside to the center of the spiral. In neurological healthy individuals, the increase in the erythrocyte osmotic fragility was associated with a decrease in the approximate entropy for rest tremor and with an increase of the entropy for movement tremor. This suggests that the neuromuscular degeneration associated with tremor entails also the mechanisms involved in the breakdown of structural homeostasis of the erythrocyte membrane.

Keywords: Tremor, Aging, Osmotic Fragility, Electromyography.

Lista de Acrônimos

ApEn	Entropia Aproximada
AT	Adenina-timina
CFT	Curve Fitting Tool
CG	Citosina-guanina
DNA	Ácido Desoxirribonucléico
DP	Doença de Parkinson
EMG	Eletromiografia
FFT	Transformada Rápida de Fourier
HPA	Hipotálamo-pituitária-adrenal
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
NaCl	Cloreto de Sódio
RMS	Root Mean Square (raiz média quadrática)
RMSE	Root Mean Square Error (raiz média quadrática dos erros - erro padrão)
SSE	Sun of Square Due to Error (soma dos mínimos quadrados devidos ao erro)
TCD	Teoria do Corpo Descartável
TE	Tremor Essencial
TRS	Fahn-Tolosa-Marin Tremor Rating Scale
UPDRS	Unified Parkinson Disease Rating Scale
WHGET	Washington Heights-Inswood Genetic Study of Essential Tremor

Conteúdo

Capítulo 1 - Introdução	1
1.1 Motivação e justificativa	2
1.2 Definição do problema	4
1.3 Objetivos da pesquisa	5
1.4 Contribuições da tese.....	6
1.5 Publicações	6
1.5.1 Jornais.....	6
1.5.2 Congressos.....	7
1.6 Estrutura da tese.....	8
 Capítulo 2 - Tremor e envelhecimento	 9
2.1 Tremor - Conceitos e características	9
2.1.1 Tremor fisiológico, tremor essencial e a doença de Parkinson	10
2.2 Técnicas de medição do tremor	12
2.2.1 A eletromiografia.....	13
2.2.2 A acelerometria.....	15
2.2.3 A espirografia	17
2.3 Teorias do envelhecimento	19
2.3.1 Idade e velhice	19
2.3.2 O conceito de envelhecimento.....	20
2.3.3 As teorias sobre o envelhecimento	21
2.3.3.1 Acúmulo de mutação	23
2.3.3.2 Teoria do corpo descartável (TCD)	24
2.3.3.3 Pleiotropia antagonista	25
2.3.3.4 Regulação genética.....	26
2.3.3.5 Catástrofe de erros	26
2.3.3.6 Mutação somática.....	27
2.3.3.7 Desdiferenciação	28
2.3.3.8 Envelhecimento celular - Teoria dos telômeros	29
2.3.3.9 Radicais livres (ou dano oxidativo)	30

2.3.3.10 Desgaste (<i>wear-and-tear</i>)	31
2.3.3.11 Neuroendócrina	32
2.3.3.12 Imunológica	32
2.3.3.13 Ritmo de vida (<i>rate-of-living</i>).....	33
 Capítulo 3 - Avaliação da correlação entre tremor, variáveis sanguíneas e dados da eletromiografia e da acelerometria	34
3.1 Métodos	34
3.2 Coleta de dados.....	35
3.3 Resultados obtidos.....	39
3.3.1 A_1 x Idade	40
3.3.2 dx x Idade	41
3.3.3 Entropia x H_{50} - EMG.....	42
3.3.4 Entropia x H_{50} - Acelerômetro.....	44
3.3.5 A_1 x Idade - Por gênero.....	45
3.3.6 dx x Idade - Por gênero.....	47
3.3.7 Entropia x H_{50} - EMG - Por gênero.....	48
3.4 Discussão.....	52
 Capítulo 4 - Considerações finais e trabalhos futuros	55
4.1 Considerações finais e limitações do estudo	55
4.2 Sugestões para trabalhos futuros	56
 Referências bibliográficas	58
 Anexo A - Ferramenta <i>Curve Fitting Tool</i>	65

LISTA DE FIGURAS

Figura 2.1 - Representação esquemática da unidade motora.....	14
Figura 2.2 - Exemplo de sinal eletromiográfico	14
Figura 2.3 - Localização dos músculos flexor e extensor ulnar do carpo	15
Figura 2.4 - Exemplo de gráfico gerado com os dados do acelerômetro	16
Figura 2.5 - Diagrama da unidade básica de um acelerômetro piezoresistivo	17
Figura 2.6 - Tablet (mesa digitalizadora) utilizado para o experimento da espirografia.....	18
Figura 2.7 - Exemplo de espiral reconstruída pelos vetores temporais das coordenadas da mesa digitalizadora	18
Figura 3.1 - Gráfico gerado pelo software OriginPro 7.5, a partir dos dados do espectrofotômetro	36
Figura 3.2 – Representação esquemática do protocolo de coleta de dados.....	38
Figura 3.3 - Correlação linear entre A_I e idade.....	42
Figura 3.4 - Correlação linear entre dx e idade.....	43
Figura 3.5 - Correlação linear de H_{50} com a entropia aproximada dos dados eletromiográficos associados ao estado de repouso	44
Figura 3.6 - Correlação linear de H_{50} com a entropia aproximada dos dados eletromiográficos associados ao movimento da mão do centro para o exterior da espiral.....	44
Figura 3.7 - Correlação linear de H_{50} com a entropia aproximada dos dados eletromiográficos associados ao movimento da mão do exterior para o centro da espiral.....	45
Figura 3.8 - Correlação linear de H_{50} com a entropia aproximada dos dados do acelerômetro no estado de repouso.....	46
Figura 3.9 - Correlação linear de H_{50} com a entropia aproximada dos dados do acelerômetro associados ao movimento da mão do centro da espiral para o exterior.....	46
Figura 3.10 - Correlação linear entre A_I e idade, por gênero.....	48
Figura 3.11 - Correlação linear entre dx e idade, para as mulheres.....	49
Figura 3.12 - Correlação linear entre dx e idade, para as homens.....	49
Figura 3.13 - Correlação linear entre entropia aproximada do sinal EMG e o valor da	

concentração salina em que ocorreu o rompimento de 50% das hemácias (H_{50}), por gênero. Em estado de repouso.....	51
Figura 3.14 - Correlação linear entre entropia aproximada do sinal EMG e o valor da concentração salina em que ocorreu o rompimento de 50% das hemácias (H_{50}), por gênero. No movimento do centro para o exterior da espiral.	52
Figura 3.15 - Correlação linear entre entropia aproximada do sinal EMG e o valor da concentração salina em que ocorreu o rompimento de 50% das hemácias (H_{50}), por gênero. No movimento do exterior da espiral para o centro.....	53
Figura A-1 - Janela Data do CFT, mostrando os parâmetros para importação dos dados. .	68
Figura A-2 - Janela Fitting do CFT, mostrando os parâmetros para as análises que serão feitas sobre os dados importados.	69
Figura A-3 - Gráfico gerado pelo CFT. Na parte superior, aparece a curva calculada para os dados fornecidos nas etapas anteriores	71
Figura A-4 - Parâmetros de filtragem informados no CFT antes da plotagem da curva.....	72

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Classificação de algumas das principais teorias sobre o envelhecimento.....	23
Tabela 2 – Resultado da correlação por gênero dos parâmetros significativos.....	54

Capítulo 1

Introdução

O envelhecimento é um processo natural para todos os organismos vivos. Apesar de serem bem conhecidos seus efeitos, suas causas ainda são objeto de estudos pela ciência.

Nas últimas décadas, a população mundial vem apresentando um envelhecimento proporcional crescente, provocado tanto pela redução nos índices de natalidade quanto pelos avanços dos conhecimentos na área de saúde, que proporcionam ao ser humano uma maior longevidade, em condições mais saudáveis.

O aumento no contingente de idosos chama a atenção dos pesquisadores para os temas característicos dessa fase da vida, em que há uma maior fragilidade e maior propensão para o aparecimento de doenças crônicas, que podem comprometer sua vida familiar e social. Por esse motivo, o número de pesquisas relacionadas ao envelhecimento tem crescido, buscando-se conhecer melhor suas peculiaridades e seus desafios.

Dentre os principais problemas que afetam as pessoas idosas estão os distúrbios de movimento, provocados pela deterioração do sistema neuromuscular. O tremor é o mais característico, chegando a ser considerado comum entre os idosos, podendo ou não ser sintoma de doenças mais importantes.

Apesar das causas do envelhecimento não estarem ainda totalmente esclarecidas, é consenso que há alterações importantes nos sistemas orgânicos, com perda da capacidade funcional e na reposição natural das células. Mas os mecanismos desse processo de degeneração fisiológica ainda não foram bem estabelecidos, nem comprovados totalmente seus efeitos.

1.1 Motivação e justificativa

O tremor em idosos sempre foi considerado como uma consequência normal da idade. Tanto assim que raramente é motivo de queixa dessa parcela da população nas visitas ao consultório médico. Mas o tremor pode interferir na qualidade de vida, prejudicando o desempenho das atividades normais do cotidiano e até causando constrangimento no convívio social (ANOUTI; KOLLER, 1995; BAGWATH, 2001).

A maioria das pessoas, em qualquer idade, tem tremor. Esse tremor, denominado de fisiológico, é muito leve, tem frequência rápida e raramente é percebido a olho nu (DENG; LE; JANKOVIC, 2007). Em algumas situações, esse tipo de tremor pode se tornar visível, como nos casos de medo, fadiga muscular, disfunções metabólicas, uso de determinadas drogas, dentre outros. Nesses casos, como há um aumento do débito cardíaco, o tremor se intensifica, voltando ao normal assim que a causa desaparece (MATTOS, 1998).

Não é essa a situação, entretanto, do tremor habitualmente encontrado em idosos, já que geralmente o tremor é persistente e facilmente identificável em situações normais. Segundo Wyne (2005), já foram identificados mais de dez tipos diferentes de tremores, com variações de padrão, intensidade, frequência e amplitude. Apesar de haver uma ampla literatura a esse respeito, as principais doenças que provocam tremor em idosos, principalmente o tremor essencial e a Doença de Parkinson, ainda não tiveram suas causas inequivocamente identificadas, o que prejudica o diagnóstico e consequentemente o tratamento.

A idade média da população mundial tem se elevado nas últimas décadas, principalmente em razão da melhoria da qualidade de vida da população e dos avanços da ciência, que proporcionam uma maior longevidade. Fatores sociais e econômicos que influenciam a redução do número de filhos por família contribuem, também, para o envelhecimento médio da população (KALACHE; VERAS; RAMOS, 1987). Isto reforça a necessidade de pesquisa sobre o envelhecimento.

A Comunidade Européia estima que, em 2050, mais de 10% da população mundial terá mais de 80 anos, sendo que só em seus países membros esse percentual subirá de 16,4% em 2004 para 29,9% em 2050 (BAUTIER, 2005). Quantitativamente, no final do século XX, mais da metade da população idosa vivia nas regiões menos desenvolvidas, o que aumenta a complexidade dos cuidados específicos que precisam ser dispensados a essas pessoas, em

locais onde os recursos da Medicina ainda não estão disponíveis a toda a população (KALACHE; VERAS; RAMOS, 1987).

No Brasil, se em 2000 a população com mais de 60 anos representava 7,3% do total, os dados preliminares do Censo 2010 apontaram para um percentual de 10,8% da população. O Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) estima que a esperança de vida ao nascer, que era de 66,0 anos em 1980, subirá para 78,2 anos em 2030 e para 81,3 em 2050 (IBGE, 2008).

Se por um lado o envelhecimento da população e o aumento da expectativa de vida ao nascer são dados favoráveis, demonstrando uma melhora geral nas condições de vida do ser humano, por outro há reflexos que precisam ser considerados no que se referem às mudanças sociais e econômicas que esse perfil provoca, tais como o impacto sobre a previdência social, o aumento na demanda por serviços de saúde e a redução no contingente em idade produtiva.

No caso brasileiro, onde o atendimento à saúde ainda não consegue atingir níveis regulares de qualidade, o processo de envelhecimento da população torna-se ainda mais importante. Os problemas de saúde específicos da idade precisam ser mais bem compreendidos para que haja um planejamento adequado ao seu atendimento no presente e futuro.

Sendo o tremor um desses problemas, como foi relatado acima, e sendo um dos que menos foi esclarecido até o momento, é fundamental que sejam realizados estudos mais aprofundados visando ampliar o rol de informações que permitam o desenvolvimento de estratégias de tratamento e prevenção.

Enquanto existem diversos estudos sobre o tremor em outros países, mesmo que ainda não sejam totalmente conclusivos, no Brasil ainda há carência de dados mais específicos sobre o tema, o que por si só justifica este trabalho. Além disso, mesmo nas publicações internacionais, há divergência entre os resultados publicados por diferentes centros de pesquisa. Um exemplo disso é a falta de consenso sobre as frequências características do tremor nas diferentes doenças ou sobre a correspondência ou não entre as eventuais variáveis que possam ser correlacionadas para delinear um quadro mais preciso de cada uma delas. (MANSUR et al, 2007).

Diante da carência de trabalhos sobre a população brasileira e da falta de uniformidade nos estudos internacionais, o que permitiria sua reprodução com outras bases de dados, esta pesquisa destina-se a coletar informações sobre uma amostra da população de Uberlândia, Estado de Minas Gerais, dentro de um projeto mais amplo de estudos sobre o tremor que está sendo realizado junto a idosos pertencentes a essa região.

1.2 Definição do problema

Conforme já foi reportado anteriormente, há poucos estudos específicos sobre a epidemiologia do tremor na população brasileira e suas características. Além disso, os trabalhos com amostras de outros países não são conclusivos ou não apresentam um protocolo padronizado que permita sua reprodução com uma amostra local, que possa reproduzir os estudos realizados e comparar os resultados com os que já foram publicados sobre o assunto.

Uma das dificuldades encontradas para o estudo do tremor em idosos é a caracterização do envelhecimento, conceito que pode ter diversas acepções. A mais utilizada é a idade cronológica, ou seja, o tempo transcorrido desde o nascimento do indivíduo até o presente. Esse indicador, entretanto, não pode ser utilizado isoladamente, já que há inúmeros fatores que podem acelerar ou retardar o desgaste orgânico ao longo do tempo, tais como comportamento (e.g. alimentação, prática ou não de exercícios físicos, tabagismo), exposição a fatores prejudiciais (e.g. poluição, clima, radiação), características genéticas, dentre outros. Por esse motivo, alguns indivíduos de idade cronológica semelhante podem apresentar sinais de envelhecimento diferentes.

Há inúmeras teorias sobre as causas do envelhecimento e durante os trabalhos que têm sido realizados nas últimas décadas já foi possível encontrar alguns indicadores biológicos que auxiliam na determinação aproximada da idade biológica, ou seja, dos efeitos do tempo e dos demais fatores sobre o envelhecimento do organismo. Um deles são as alterações de membrana, em decorrência de mudanças na composição ou oxidações promovidas por radicais livres. Pela facilidade de obtenção e manipulação de laboratório, os estudos utilizam prioritariamente os eritrócitos, que têm ainda a característica de representar o comportamento de membrana de outras células pós-mitóticas do organismo, como os neurônios (NILSSON-EHLE, 2000; RABINI et al, 2002; CORDERO et al, 2004; ARKING, 2006; MAROTTA et al, 2006).

Com base nesses dados, esta pesquisa investiga a correlação entre a idade cronológica, fragilidade das membranas celulares dos eritrócitos e as características do tremor fisiológico, obtidos a partir da coleta de sangue e de sinais eletromiográficos e de acelerometria respectivamente. Foram coletados dados de uma amostra de indivíduos de idades variadas (24

– 87 anos), residentes da cidade de Uberlândia, Minas Gerais, buscando ampliar as informações existentes sobre o tremor no país.

A fragilidade das membranas celulares dos eritrócitos e a quantificação do tremor fisiológico, já foram descritos e testados por trabalhos de outros autores, de maneira isolada (ELBLE, 2003; CORDERO et al, 2004; STURMAN et al, 2005; MAROTTA et al, 2006; FREITAS et al 2010). Sua correlação, entretanto, não foi ainda estudada, especialmente em uma amostra da população brasileira. O que se busca nesta pesquisa é ampliar o conhecimento sobre a evolução do tremor fisiológico em idosos por meio da análise da correlação entre tremor, degeneração celular e envelhecimento.

1.3 Objetivos da pesquisa

O objetivo geral deste trabalho é verificar a relação entre a fragilidade osmótica dos eritrócitos e o tremor em função do envelhecimento, em uma amostra composta de indivíduos de diferentes faixas etárias. Para atingi-lo, foram adotados os seguintes objetivos específicos:

- Fazer uma revisão buscando como base os trabalhos já publicados sobre o tremor em idosos e sobre as teorias do envelhecimento;
- Coletar informações (e.g., sinais eletromiográficos e de acelerometria, amostra de sangue) sobre o tremor e fragilidade das membranas celulares em indivíduos de diferentes faixas etárias de uma amostra da população brasileira;
- Analisar as possíveis correlações existentes entre tremor, determinado por EMG e acelerometria, degeneração celular e idade.

1.4 Contribuições da tese

Os resultados deste trabalho visam ampliar os conhecimentos sobre a correlação entre a degeneração celular e as alterações do sistema neuromuscular com o aumento da idade. Pretendeu-se, com isso, oferecer as seguintes contribuições para a ciência:

- 1) Ampliar as informações sobre a correlação entre o aumento da fragilidade das membranas celulares dos eritrócitos e o envelhecimento;
- 2) Correlacionar as informações referentes a esse aumento de fragilidade e as características dos sinais eletromiográficos;
- 3) Investigar as diferenças observadas no sinal eletromiográfico (EMG) e na acelerometria entre diferentes grupos etários e entre gêneros, especificamente entre indivíduos mais jovens e mais idosos;
- 4) Avaliar a correlação entre a fragilidade dos eritrócitos e os dados neuromusculares coletados pelo EMG e pelo acelerômetro;
- 5) Avaliar a validade da metodologia empregada no estudo do tremor como indicador de alterações neuromusculares nos idosos;
- 6) Ampliar a base de conhecimentos sobre as alterações no tremor não patológico ocorridas com o envelhecimento dos indivíduos.

1.5 Publicações

Os resultados desta pesquisa foram divulgados em congressos e revistas nacionais e internacionais.

1.5.1 Jornais

MANSUR, P. H. G.; CURY, L. K. P.; LEITE, J. O. B.; PEREIRA, A. A.; PENHA-SILVA, N.; ANDRADE, A. O.; **The Aproximate Entropy of the Eletromyographic**

Signals of Tremor Correlates With the Osmotic Fragility of Human Erythrocytes, BioMedical Engineering Online, doi: 10.1186/1475-925X-9-29, 2010. (<http://www.biomedical-engineering-online.com/content/9/1/29>).

MANSUR, P. H. G.; CURY, L. K. P.; ANDRADE, A. O.; PEREIRA, A. A.; MIOTTO, G. A. A.; SOARES, A. B.; NAVES, E. L. M.; **A Review on Techniques for Tremor Recording and Quatification**, Critical Reviews in Biomedical Engineering, v. 35, p. 343-362, 2007.¹

1.5.2 Congressos

MANSUR, P.H. G.; CURY, L. K. P.; PEREIRA, A. A.; PENHA-SILVA, N.; ANDRADE, A.O.; **The Aproximate Entropy of the Eletromyographic Signals of Tremor Correlates With the Osmotic Fragility of Human Erythrocytes**, The VIII Congress of the International Society of Eletrophysiology and Kinesiology – ISEK 2010.

CURY, L. K. P; MANSUR, P.H. G.; PEREIRA, A. A.; ANDRADE, A.O.; **The Aproximate Entropy of the Eletromyographic Signals Correlates With Age**, The VIII Congress of the International Society of Eletrophysiology and Kinesiology – ISEK 2010.

CURY, L. K. P.; MANSUR, P. H. G.; ANDRADE, A. O.; PEREIRA, A. A.; MIOTTO, G. A. A.; SOARES, A. B.; NAVES, E. L. M.; **Tremores Patológicos – Métodos de Detecção e Análise**, 21º Congresso Brasileiro de Engenharia Biomédica, p. 1363-1366, ISBN: 978-85-60064-13-7, 2008.

¹ Este artigo foi submetido e aceito para publicação em 2008, porém como a revista estava com defasagem de exemplares, foi publicado com data de 2007.

MANSUR, P. H. G.; ANDRADE, A. O.; PEREIRA, A. A.; **O Tremor em Idosos**, V CEEL (Conferência e Estudos em Engenharia Elétrica), Uberlândia – Brasil, 2007. Anais: CD-ROM.

MANSUR, P. H. G.; ANDRADE, A. O.; PEREIRA, A. A.; **Envelhecimento Celular e Tremor**, 4ª Semana Acadêmica da Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia – Brasil, 2007. Anais: CD-ROM.

1.6 Estrutura da tese

Além deste capítulo introdutório, a tese é composta por quatro capítulos, assim distribuídos:

O segundo capítulo apresenta os conceitos teóricos relacionados ao tremor comumente encontrado em pessoas idosas e sobre ferramentas utilizadas para sua medição. Apresenta, também, as teorias sobre as causas do envelhecimento humano.

No terceiro capítulo é descrito o estudo feito por este trabalho, sua metodologia, resultados obtidos e a discussão desses resultados.

No quarto e último capítulo são feitas as considerações finais e as sugestões para os trabalhos futuros que possam complementar as informações obtidas por este estudo.

Capítulo 2

Tremor e envelhecimento

2.1 Tremor – Conceitos e características

O tremor é conceituado como sendo o movimento involuntário, oscilatório ou rítmico, com frequência e amplitude regulares, de alguma parte do corpo humano, causado pelas contrações alternadas ou síncronas de músculos agonistas ou antagonistas reciprocamente inervados. Ele é o distúrbio de movimento mais comum encontrado na prática clínica (MATTOS, 1998; SENEVIRATNE; KING, 2003; BHIDAYASIRI, 2005; MANSUR et al, 2007).

A regularidade de sua frequência e amplitude distinguem o tremor de outros tipos de problemas que causam movimentos involuntários, como a coréia, a atetose, a mioclonia ou os tiques de origem nervosa (BHIDAYASIRI, 2005).

Existem diversas classificações para os tremores, sendo a mais comum a que considera a forma de sua ocorrência, em repouso ou em ação (MATTOS, 1998; WYNE, 2005; MANSUR et al, 2007):

- a) Repouso: ocorre quando a parte do corpo afetada encontra-se relaxada, sem movimento e completamente suportada pela gravidade, reduzindo ou desaparecendo quando há algum movimento voluntário.
- b) Em ação: ocorre quando há algum movimento ou contração muscular.
 - Postural: quando o membro afetado é mantido em uma determinada posição contra a ação da gravidade; por exemplo, quando o braço é estendido à frente do corpo em posição paralela ao chão;
 - Cinético: ocorre antes, durante ou depois da realização de algum movimento voluntário;

- Isométrico: ocorre quando há uma contração muscular voluntária do membro afetado contra algum objeto estacionário;
- De ação específica: ocorre durante a execução de determinadas tarefas, como a escrita. Alguns autores incluem este tipo entre os tremores cinéticos.

2.1.1 Tremor fisiológico, tremor essencial e a doença de Parkinson

O tremor está presente em todos os indivíduos. Esse tremor, denominado fisiológico, geralmente é imperceptível a olho nu. Tipicamente é um tremor postural e sua causa é atribuída à ressonância mecânica produzida nos músculos por fatores fisiológicos normais, inclusive pelos batimentos cardíacos. Apresenta-se com frequências entre 8 e 12 Hz, sendo menor na infância e na velhice. O tremor fisiológico pode se tornar mais acentuado em algumas circunstâncias, tais como situações de medo, ansiedade, fadiga muscular ou ingestão de substâncias que afetem o sistema nervoso central (álcool, cafeína, etc). Nesses casos, a principal característica que o distingue dos demais tremores é que, eliminada a causa, o tremor volta a ser imperceptível (HABIB-UR-REHMAN, 2000; RAETHJEN et al, 2000; BHIDAYASIRI, 2005).

O tremor essencial e a Doença de Parkinson são as duas doenças mais comumente relacionadas ao tremor em idosos. O tremor essencial (TE) é tipicamente um tremor de ação, postural ou cinético, geralmente bilateral e simétrico que afeta os membros superiores em cerca de 95% dos casos. Também podem ser afetados a cabeça (32-34%), os membros inferiores (20-22%), a voz (12-16%), a face e o tronco (5-6%) (TALLON-BARRANCO et al, 1997; BHIDAYASIRI, 2005; MANSUR et al, 2007). Estima-se que o tremor atinja entre 0,3% e 7% da população mundial, mas sua prevalência varia muito na literatura (HABIB-UR-REHMAN, 2000). Deve-se levar em consideração que cerca de 90 a 99% dos pacientes com tremor essencial não procuram ajuda médica para o problema, ficando fora dos estudos sobre essa doença (WENDT et al, 2000).

Sua causa é desconhecida, mas há trabalhos que associam fatores externos e genéticos como responsáveis por seu surgimento (DENG; LE; JANKOVIC, 2007). Também já foram encontrados casos de histórico familiar positivo em aproximadamente metade dos casos

(TALLON-BARRANCO et al, 1997; LOUIS et al, 1998; HABIB-UR-REHMAN, 2000; THANVI; LO; ROBINSON, 2005).

Na maioria das vezes, o tremor essencial surge a partir da sexta década de vida do indivíduo, apesar de terem sido reportados casos de pacientes adolescentes (TALLON-BARRANCO et al, 1997; WYNE, 2005; THANVI; LO; ROBINSON, 2005) e até em crianças (UDDIN; RODNITZKY, 2003). Ambos os gêneros são afetados igualmente. Estudos em populações multiétnicas também não encontraram diferenças na incidência em um ou outro grupo, exceto em casos esporádicos e isolados (PAHWA; LYONS, 2003; BHIDAYASIRI, 2005).

O TE não é uma doença homogênea, que se manifesta de maneira uniforme em todos os pacientes. A variedade de apresentações, incluindo idade de aparecimento, membros afetados e forma de evolução, leva alguns autores a acreditar na existência de subtipos clínicos da doença, mas essa classificação ainda não é consensual (LOUIS; FORD; BARNES, 2000). Já foi observado, entretanto, que com o progresso da doença e aumento da idade do paciente a frequência do tremor diminui enquanto a amplitude aumenta (PAHWA; LYONS, 2003).

A Doença de Parkinson (DP) é menos comum que o tremor essencial, mas estima-se que afete cerca de 1 milhão de norte-americanos, atingindo em torno de 1% da população com mais de 65 anos e até 2% daquela com mais de 80 anos. Os estudos sobre sua causa são mais frequentes. Já foi constatado que há uma perda de células produtoras de dopamina situadas na substância negra do sistema de controle motor córtico-espinhal. As causas dessa perda ainda não foram elucidadas, mas, como no tremor essencial, aparentemente há o envolvimento de fatores externos e genéticos (WYNE, 2005).

Diferentemente do tremor essencial, onde o próprio tremor é o principal sintoma, a Doença de Parkinson é uma síndrome formada por diversos distúrbios, tais como bradicinesia, rigidez e instabilidade postural. O tremor é assimétrico e mais visível em repouso, aparecendo em conjunto com tremor postural e em ação (BHIDAYASIRI, 2005). Também os membros superiores são mais afetados, apesar de também ficarem comprometidos, com o passar do tempo, os membros inferiores, lábios e mandíbula (WYNE, 2005). Raramente a cabeça é afetada, o que pode ser um diferencial diagnóstico em relação ao TE.

Já foram encontrados pacientes em que as duas doenças ocorrem concomitantemente (TALLON-BARRANCO et al, 1997). Também há trabalhos que consideram a hipótese de pacientes com tremor essencial desenvolverem, com o tempo, a DP, bem como de familiares de pacientes com DP terem uma maior incidência de TE (SHADED; JANKOVIC, 2007).

Estudos com gêmeos monozigóticos apontaram a concordância de diagnóstico em cerca de 60% dos casos (PAHWA; LYONS, 2003). Haveria, portanto, uma ligação genética entre essas doenças, o que poderia levar à existência de algum marcador biológico que permitisse seu diagnóstico prévio. Esses estudos, entretanto, foram localizados e não puderam ser confirmados em outras amostras (BARBOSA; MELO, 2007).

Aproximadamente 15 a 25% dos pacientes com TE se aposentam prematuramente e 60% revelam que têm suas carreiras profissionais prejudicadas pelo tremor (BHIDAYASIRI, 2005), além da dificuldade na execução de tarefas cotidianas como escrever, se vestir, usar talheres, dentre outras (WENDT et al, 2000). Quanto a DP, é reconhecidamente uma doença degenerativa, que pode apresentar outros distúrbios não motores, tais como dores sem causa definida, ansiedade, fadiga, insônia, apatia, depressão, demência, psicose, perda de olfato e paladar, perda de peso, levando o paciente à invalidez (BARBOSA; GONÇALVES, 1997).

O estudo do tremor é importante para a melhoria da qualidade de vida das pessoas principalmente se levarmos em consideração que a longevidade tem aumentado ano a ano. Quanto maior for a compreensão das causas e características do tremor, melhores serão as terapias oferecidas para os pacientes acometidos por esse distúrbio, reduzindo seus efeitos nas atividades cotidianas.

2.2 Técnicas de medição do tremor

Por não existirem exames laboratoriais que permitam o diagnóstico definitivo das principais doenças que provocam o tremor, a maioria dos casos depende do exame clínico para sua identificação.

Diagnosticada a doença, há diversos protocolos sugeridos na literatura, bem como questionários padronizados que auxiliam o trabalho de acompanhamento clínico através de escalas. É o caso, por exemplo, das escalas *Unified Parkinson Disease Rating Scale* (UPDRS) (GREFFARD et al, 2006), *Fahn-Tolosa-Marin Tremor Rating Scale* (TRS) (STACY et al, 2007) e *Washington Heights-Inswood Genetic Study of Essential Tremor* (WHIGET) (LOUIS et al, 1998). Esses instrumentos, entretanto, baseiam-se em respostas dos pacientes às questões ou na observação do examinador, conferindo caráter subjetivo aos resultados.

Para que se obtenham dados objetivos, é necessária a utilização de ferramentas que caracterizem o tremor através de sua frequência, amplitude ou de seus efeitos sobre um padrão pré-estabelecido, a partir de modelos matemáticos que possam ser trabalhados estatisticamente.

Dentre essas ferramentas, três se destacam por serem as mais utilizadas nos trabalhos publicados na literatura: a eletromiografia (EMG), a acelerometria e a espirografia. Em geral, as medições feitas por esses aparelhos são adquiridas através de sensores analógicos, convertidas em sinais digitais e registradas em um computador para posterior análise.

2.2.1 A eletromiografia

Todos os movimentos do corpo, incluindo sua manutenção em determinada postura, dependem da ativação neuroelétrica de alguns músculos e do relaxamento de outros, dando sustentação ao sistema óssea que forma a estrutura do organismo.

O sinal elétrico é emitido pelo Sistema Nervoso Central, passa pela medula espinhal e atinge as fibras musculares, provocando sua contração (movimentos voluntários). Os movimentos reflexos, inconscientes ou subconscientes, são originários dos nervos motores situados na própria medula espinhal (Figura 2.1).

Ao atingir as fibras musculares, o sinal provoca sua contração, através do encurtamento dos filamentos bioquímicos intercalados que formam as células musculares. Esse sinal se dissipa ao longo da extensão do músculo, podendo ser captado por sensores colocados diretamente no tecido ou sobre a pele que o recobre (LAMB; HOBART, 1992).

A eletromiografia (EMG) é um exame que permite registrar essa atividade elétrica produzida pelos impulsos nervosos que ativam a musculatura.

No final do século XVIII, Luigi Galvani publicou os primeiros estudos sobre a atividade elétrica associada à contração muscular. A detecção desses sinais começou a ser estudada na década de 1910, mas os primeiros equipamentos capazes realmente de detectar só apareceram no final da década seguinte, com a criação de eletrodos no formato de agulhas que eram introduzidas no músculo a ser estudado. Esse tipo de eletrodo ainda é utilizado, principalmente para a captação de sinais localizados em musculatura não superficial e de pequeno volume, apesar da desvantagem de se tratar de um método invasivo. Nos últimos

vinte anos, entretanto, foram desenvolvidos eletrodos de superfície que captam o sinal de maneira mais abrangente, mas não causam desconforto ao paciente por serem colocados sobre a pele (MERLETTI; PARKER, 2004).

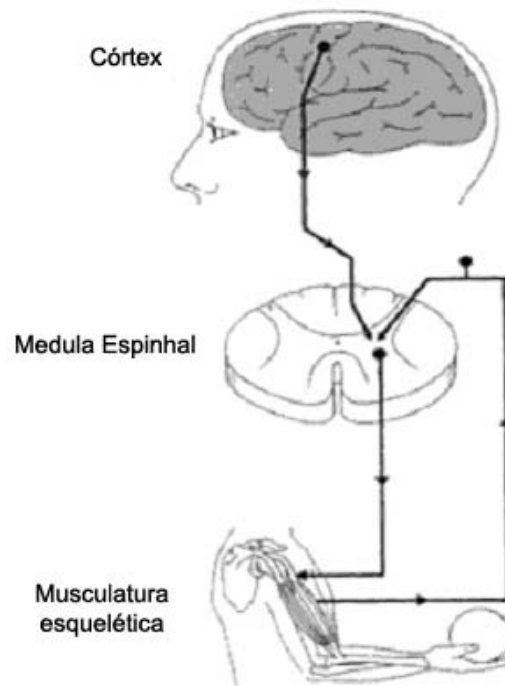


Figura 2.1 - Representação esquemática da unidade motora. Fonte: (MERLETTI; PARKER, 2004).

Tipicamente um eletromiógrafo (EMG) é composto por um ou mais eletrodos ligados a uma unidade captadora. Nessa unidade, o sinal analógico é amplificado e filtrado, podendo então ser observado no monitor, impresso em papel ou convertido em sinais digitais e armazenado em mídia eletrônica para posterior consulta e/ou reprodução. A Figura 2.2 exemplifica um sinal eletromiográfico. Sua amplitude varia de mV ou μ V, dependendo da intensidade do sinal em função do tempo.

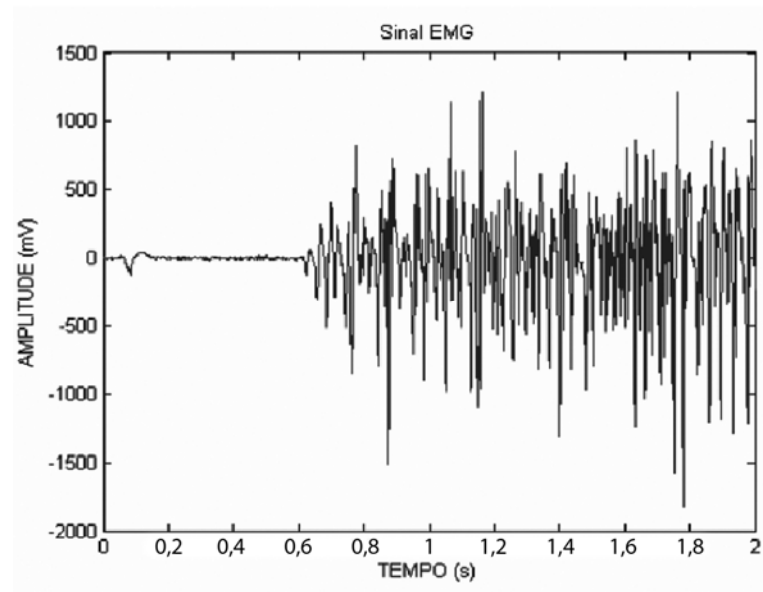


Figura 2.2 - Exemplo de sinal eletromiográfico. Fonte: (MARCHETTI; DUARTE, 2006).

Uma vez que o tremor é causado pela contração involuntária dos músculos, o uso de um eletromiógrafo pode registrar a frequência e a amplitude dessas contrações em um determinado músculo que produza tremor, como é o caso dos flexor e extensor ulnar do carpo (Figura 2.3), responsáveis pela movimentação da mão em relação ao antebraço. (BHAGWATH, 2001; BHIDAYASIRI, 2005).

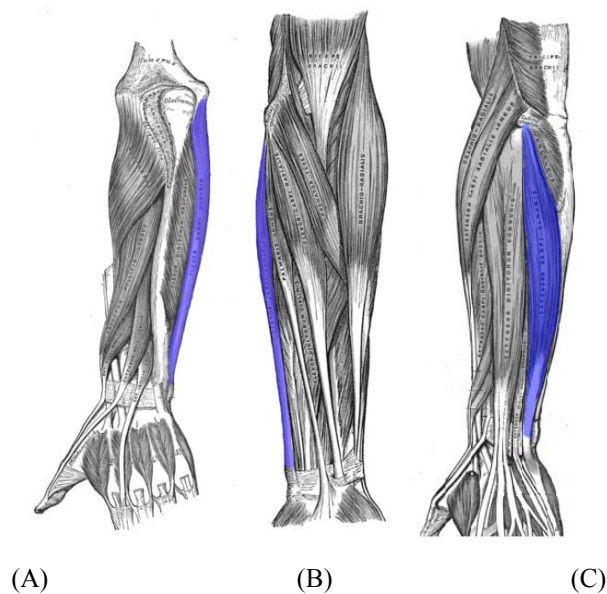


Figura 2.3 - Localização dos músculos flexor e extensor ulnar do carpo (em azul), muito utilizados para a detecção do tremor nos membros superiores. (A) Músculo Flexor Ulnar do Carpo - vista posterior do antebraço; (B) Músculo Flexor Ulnar do Carpo - vista anterior do antebraço; (C) Músculo Extensor Ulnar do Carpo - vista posterior do antebraço. Fonte: Wikipedia - domínio público.

2.2.2 A acelerometria

Os acelerômetros são instrumentos que medem a aceleração em um, dois ou três eixos. A demanda da indústria automotiva e da engenharia civil por um equipamento que medisse vibrações fez com que fossem desenvolvidas diversas tecnologias, dentre as mais comuns aquelas baseadas na piezoelectricidade². Atualmente esse tipo de dispositivo é utilizado em aplicações comuns, tais como em sismógrafos, ‘notebooks’ (para detectar a queda), acionamento de ‘airbags’, medidores de vibração em grandes estruturas metálicas.

O uso de acelerômetros em seres humanos foi proposto desde a década de 1950. Naquela época, entretanto, o tamanho e o custo dos equipamentos não oferecia condições práticas para sua utilização em laboratório. O desenvolvimento ocorrido nas duas últimas décadas, entretanto, fez cair drasticamente seu custo e suas dimensões, permitindo aplicações bastante diversificadas, indo desde o estudo do movimento de atletas, na Medicina Esportiva, até a criação de estratégias de reabilitação fisioterápica (OKADA, 1992; CULHANE et al, 2005).

Os registros do acelerômetro fornecem informações sobre os deslocamentos detectados nos eixos X, Y e Z ao longo do tempo (Figura 2.4).

² A piezoelectricidade é a propriedade que certos materiais têm de produzir uma carga elétrica em sua superfície quando submetidos à pressão em determinada direção, como ocorre com o quartzo e a turmalina.

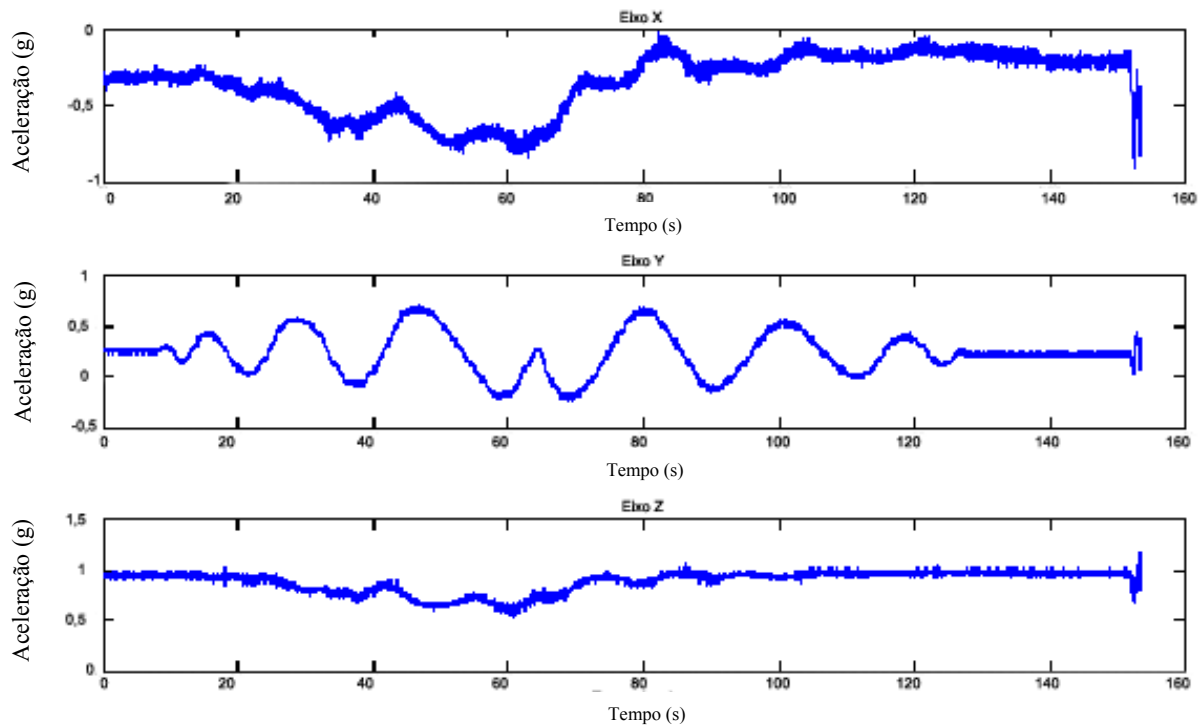


Figura 2.4 - Exemplo de gráfico gerado com os dados do acelerômetro, mostrando as variações da aceleração em cada eixo, ou seja, a movimentação do objeto nos eixos X, Y e Z.

Basicamente, o acelerômetro é formado por pedestal, onde se movimenta livremente uma massa. A esta é acoplada uma membrana de silicone capaz de se deformar de acordo com a movimentação dessa unidade de massa. Sobre a membrana de silicone estão situados sensores, que transformam a deformação mecânica em sinais elétricos. Na Figura 2.5 é mostrado um diagrama dessa instalação.

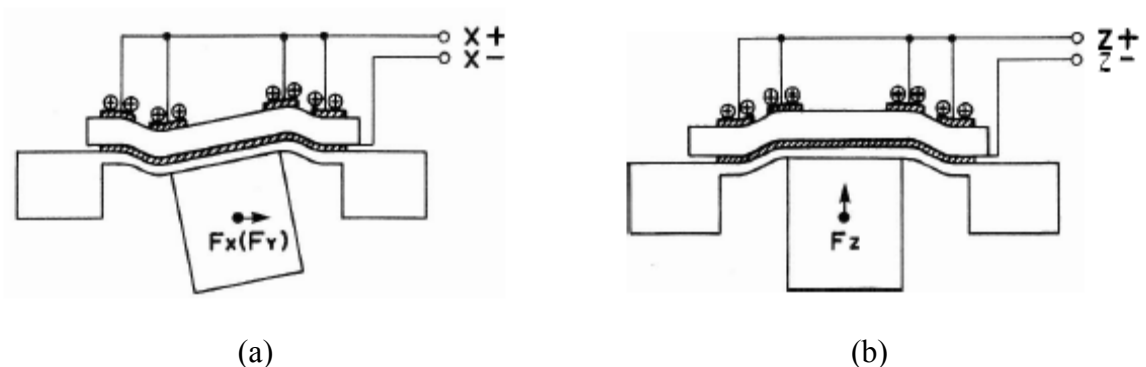


Figura 2.5 - Diagrama da unidade básica de um acelerômetro piezoresistivo. Em (a), a deformação nos eixos X e Y; em (b), a deformação no eixo Z. Fonte: OKADA (1995, p. 172).

Os acelerômetros triaxiais piezoelétricos possuem estrutura semelhante, com a diferença que, no lugar da membrana de silicone, há uma placa de cerâmica piezoelétrica, sobre a qual são instalados eletrodos que detectam a movimentação em qualquer dos eixos.

Com a miniaturização desses equipamentos, aumentou, também, sua sensibilidade. Segundo Elble (2005), esses dispositivos são capazes de detectar acelerações menores do que 0,02g, sendo que $1g = 9,807 \text{ m/s}^2$. Como o movimento de qualquer parte do corpo humano consiste, basicamente em movimentos e rotações no espaço tridimensional, o acelerômetro é capaz de registrar esses movimentos, decompondo-os em seus três eixos. Mesmo sendo sutil, a variação na aceleração inercial provocada pelo tremor pode ser facilmente captada por esses dispositivos, quando conectados adequadamente na parte que se deseja estudar.

2.2.3 A espirografia

O conceito da espirografia difere significativamente dos demais exames anteriormente descritos, onde sensores são fixados à pele do paciente para a medição do tremor. Já foi utilizado em diversos trabalhos para medição do tremor, como relatado por Ondo et al (2005), Feys et al (2007) e Mandat et al (2010).

Na espirografia, uma folha de papel contendo uma espiral de Arquimedes é colocada sobre uma mesa digitalizadora (*tablet*) (Figura 2.6). O paciente é orientado a seguir o contorno da espiral utilizando uma caneta especial, sem que o braço esteja apoiado. A base da mesa digitalizadora, sensível ao toque, coleta o contorno feito pelo participante e gera um conjunto de vetores contendo a posição (x,y) da caneta ao longo do tempo. Com essas informações é possível reproduzir o desenho feito pelo paciente e compará-lo com a espiral original. A Figura 2.6 mostra um exemplo desse equipamento, já devidamente montado para o experimento e a Figura 2.7 mostra a reconstrução da espiral feita com os registros coletados pela mesa digitalizadora.



Figura 2.6 - Tablet (mesa digitalizadora) utilizado para o experimento da espirografia.

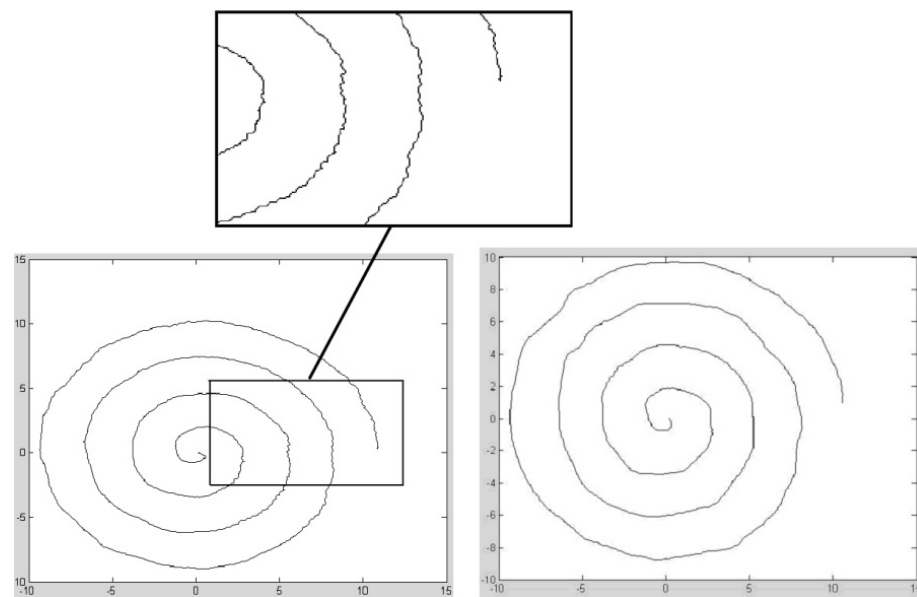


Figura 2.7 - Exemplo de espiral reconstruída pelos vetores temporais das coordenadas da mesa digitalizadora.
No detalhe, uma das regiões onde o tremor é mais evidente.

Neste caso o tremor pode ser medido pela diferença entre as coordenadas obtidas e as esperadas a partir do desenho original.

2.3 Teorias do envelhecimento

2.3.1 Idade e velhice

A velhice comporta diversos conceitos correlatos, dentre eles as diversas interpretações para a idéia de idade, que comporta as versões cronológica, biológica e psicológica.

A idade cronológica é a habitualmente utilizada para quantificar o tempo decorrido de vida do indivíduo, ou seja, desde seu nascimento até o momento considerado. Para a maioria das instituições, considera-se como velho aquele que atingiu os 65 anos, nos países desenvolvidos, ou 60 anos, nos países em desenvolvimento. Essa idade, entretanto, pode variar e serve apenas como um parâmetro. Na legislação brasileira, por exemplo, o limite de 65 anos já é aceito como divisor entre a idade adulta e a velhice (PAPALÉO NETTO, 2006).

A cronologia é utilizada, também, em trabalhos científicos, pela inexistência de marcadores biofisiológicos confiáveis que possam determinar a idade biológica, ou seja, a idade que o organismo do indivíduo aparenta em comparação com sua idade cronológica. Nesse sentido, a idade biológica pode ser significativamente diferente da cronológica naquelas pessoas que passam por situações de vida prejudiciais e que provocam um envelhecimento precoce de seu organismo, fazendo com que demonstrem sinais fisiológicos que são característicos de idades mais avançadas (PAPALÉO NETTO, 2006).

O conceito de idade psicológica é mais amplo, porém muito mais subjetivo, e envolve as capacidades subjetivas de aprendizagem, percepção, memória, etc. Também é utilizado para denominar a autopercepção de idade do indivíduo, ou seja, como este se percebe quando comparado a outros da mesma idade. Um exemplo desse conceito pode ser visto entre idosos que se sentem com idade cronológica menor do que a real e que continuam a desempenhar atividades que já não são habituais em sua faixa etária, dando a impressão de serem mais novos (PAPALÉO NETTO, 2006).

Percebe-se, desta forma, que os conceitos de idade são variados e dependem do ponto de vista adotado. Fatores ambientais, sociais e individuais podem influenciar nesse conceito, sendo possível a uma mesma pessoa ter idades cronológica, biológica e psicológica diferentes, de acordo com seu estado físico, psicológico e social, como afirma Papaléo Netto (2006).

2.3.2 O Conceito de envelhecimento

Um dos maiores dilemas e, ao mesmo tempo, uma das maiores certezas da natureza é que os seres vivos nascem, crescem, amadurecem, envelhecem e morrem. No caso dos seres humanos, especialmente as duas últimas etapas, o envelhecimento e a morte, ainda são temas que incomodam a sociedade, a primeira por representar uma etapa de decadência física quando comparada às etapas anteriores, e a segunda por ainda ser um mistério.

O senso comum compreende o envelhecimento como o processo progressivo de perda ou redução da função biológica que ocorre com o passar do tempo, aumentando a probabilidade de morte. Robert Arking (2006) alerta, entretanto, que o fator temporal deve ser considerado como uma variável independente, já que não há uma correspondência inequívoca entre a idade e a redução funcional orgânica, principalmente entre os humanos. Em outras palavras, é possível encontrar indivíduos com 80 anos bastante debilitados e dependentes dos cuidados de terceiros e outros com 90 anos independentes e saudáveis. Portanto, a passagem dos anos exerce influência sobre o processo de envelhecimento, mas essa influência deve ser relativizada nos estudos científicos voltados para a população dessa faixa etária.

Uma das dificuldades desses estudos é exatamente essa: como medir o envelhecimento, se os mecanismos que levam à degeneração orgânica ainda não foram claramente definidos, nem é uniforme a sequência de processos que leva ao envelhecimento do corpo.

Arking (2006) fornece algumas definições que podem ser úteis na concepção de pesquisas voltadas para o envelhecimento e sua compreensão:

- As mudanças relacionadas à idade manifestam-se a partir da maturidade reprodutiva do ser humano, mesmo que sua origem seja anterior a essa fase;
- Essas mudanças são cumulativas, progressivas (apresentam-se de maneira gradual), intrínsecas (não se referem a agentes ambientais passíveis de serem evitados) e deletérias (causam redução na função);
- Há tanta variação individual no processo de mudança que é praticamente impossível estabelecer-se um padrão que possa ser utilizado como referência para a maioria dos indivíduos;

- O envelhecimento pode ser considerado como a progressão de diversos marcadores e/ou expressões genéticas que leva à transição do estado de alta manutenção corporal para o estado de baixa manutenção corporal e aumento do funcionamento anormal;
- Essas mudanças nos marcadores e/ou expressões genéticas são produzidas por diversos tipos de processo de senescência.

Desses conceitos é interessante destacar que a existência de biomarcadores e/ou expressões genéticas ligadas ao envelhecimento é resultado das inúmeras pesquisas realizadas até o momento sobre o tema e que concluíram pela inexistência de um padrão específico de referência, como já foi reportado. Se há tão grande variação no processo de envelhecimento entre as pessoas, e sendo excluídas as causas externas evitáveis, parece evidente que o processo de envelhecimento seja um fator individual, uma assinatura, que raramente se repete entre dois seres humanos (ARKING, 2006).

Assim, o processo de senescência pode ser considerado como uma pré-determinação genética, mas cujos detalhes irão se definir pela interação dos produtos desses genes com o próprio organismo do indivíduo e com o ambiente externo, considerado este como o conjunto de fatores extra-corporais que podem influenciar na velocidade de progressão desse envelhecimento, tais como alimentação, exercícios e exposição a situações prejudiciais à saúde.

2.3.3 As teorias sobre o envelhecimento

Assim como são incontáveis os estudos sobre as causas e mecanismos do envelhecimento, também o são as teorias que resultam dessas pesquisas e que se destacam ou são desacreditadas à medida que novos fatos se sobrepõem aos antigos (ARKING, 2006; GOLDSMITH, 2006).

O primeiro trabalho publicado sobre as teorias do envelhecimento surgiu em 1882, onde o biólogo alemão August Weismann sugeriu que havia uma programação genética para a morte, programação essa que evolui de geração para geração, de maneira que os indivíduos mais jovens possuiriam um potencial de longevidade maior do que as gerações anteriores. Ao

longo da primeira metade do século XX, essa teoria foi sendo acrescentada de novos fatores, levantados a partir da observação de outras situações clínicas, como os efeitos cumulativos da radiação ou da exposição a certas substâncias tóxicas, que causavam danos irreversíveis ao organismo e antecipavam problemas que eram normalmente encontrados em indivíduos mais velhos (GOLDSMITH, 2006).

Não se pode descartar um aspecto importante que até hoje está presente nas pesquisas sobre o envelhecimento. Até por razões óbvias, o estudo do envelhecimento em seres humanos apresenta dificuldades técnicas por causa da longevidade da espécie. Assim, diversos trabalhos utilizam outros animais, com menor longevidade, que permitam uma observação mais rápida dos resultados. Desta forma, muitas teorias se desenvolveram sobre experiências feitas com outras espécies, como ratos ou insetos, e que encontraram indícios de analogia com os seres humanos, não tendo ainda tempo suficiente para sua comprovação experimental em populações humanas, mantendo-se, portanto, no campo da teoria. Por esse motivo, alguns desses trabalhos, periodicamente, ganham ou perdem relevância sobre outros, quando as pesquisas reforçam as evidências de sua validade ou não em seres humanos. (ARKING, 2006).

Os diversos trabalhos de revisão publicados com as principais teorias sobre o envelhecimento utilizam classificações sistemáticas diferentes para tentar reuni-las dentro de grandes grupos. Uma dessas divisões é mostrada na Tabela 1. Algumas dessas teorias serão resumidas a seguir e, como poderá ser visto, muitas possuem intersecções ou partem de princípios similares, acrescentando ou modificando idéias anteriormente levantadas por outros estudiosos.

Tabela 1 - Classificação de algumas das principais teorias sobre o envelhecimento.

Grupo	Teoria	Resumo
Evolucionária	Mutação cumulativa	As mutações que afetam a saúde na velhice não conseguem ser corrigidas
	Teoria do corpo descartável	As células somáticas são mantidas apenas para garantir a reprodução; após a fase reprodutiva, tornam-se descartáveis
	Pleiotropia ³ antagonista	Genes benéficos nas idades mais jovens tornam-se prejudiciais na velhice
Molecular	Regulação genética	A velhice é causada por mudanças na expressão dos genes que regulam tanto o desenvolvimento quanto o envelhecimento
	Catástrofe de erros	Declínio na fidelidade da expressão genética, sendo o envelhecimento o aumento no fracionamento de proteínas anormais.
	Mutação célula somática	Os danos moleculares se acumulam, principalmente no material genético (DNA)
	Desdiferenciação	Acumulação gradual de danos moleculares que prejudicam a regulação da expressão genética

³ Pleiotropia é a propriedade de um gene determinar mais de uma característica fenotípica.

Tabela 1 - Classificação de algumas das principais teorias sobre o envelhecimento (continuação)

Grupo	Teoria	Resumo
Celular	Envelhecimento celular - teoria dos telômeros ⁴	Os fenótipos do envelhecimento são causados pelo aumento na frequência de células senescentes, resultantes da perda dos telômeros ou pelo estresse celular
	Radicais livres	O metabolismo oxidativo produz radicais livres que danificam cumulativamente lipídios, proteínas e DNA
	Desgaste (<i>wear-and-tear</i>)	Acumulação de danos celulares
Sistêmica	Neuroendócrina	As mudanças fisiológicas relacionadas à idade são resultado de alterações no controle neuroendócrino da homeostase
	Imunológica	A redução da função imunológica com a idade provoca uma menor incidência de doenças infecciosas mas aumenta a autoimunidade
	Índice de existência (<i>rate-of-living</i>)	Existiria um potencial metabólico fixo para todo o organismo vivo. Quanto mais intensa for a existência, menor será a longevidade.

Fonte: adaptado de Weinert e Timiras (2003)

2.3.3.1 Acúmulo de mutação

A teoria do acúmulo de mutações foi sugerida pela primeira vez por Sir Peter Medawar, professor inglês de anatomia e zoologia da Universidade de Londres, em 1952. Na realidade, sua teoria era composta por fatores evolutivos, baseados na teoria de Weismann, e pelo acúmulo de mutações. Segundo Medawar, a força da seleção natural decresce a partir da idade em que o organismo tenha tido oportunidade para se reproduzir. Em outras palavras, os eventuais traços que possam ser letais antes da maturidade sexual tendem a ser mais fortemente combatidos pela seleção genética por serem mais prejudiciais à sobrevivência da espécie. As características genéticas que afetam o indivíduo após a fase reprodutiva não sofrem tanto o combate da evolução da espécie. Dessa forma, o envelhecimento seria resultado de mutações genéticas aleatórias que só produzem efeitos em idades mais avançadas (GOLDSMITH, 2006).

Alguns trabalhos feitos com *Drosophila melanogaster*⁵ reforçaram essa teoria, mas estudos posteriores mais aprofundados com a mesma espécie levantaram dúvida sobre sua validade (KIRKWOOD; AUSTAD, 2000). Pesquisas realizadas na década de 1960 sobre os efeitos do envelhecimento sobre o cromossoma humano revelaram um aumento significativo

⁴ Os telômeros são as extremidades dos cromossomos, responsáveis por sua manutenção estrutural durante a replicação.

⁵ A *Drosophila melanogaster* é também conhecida como mosca-das-frutas e é muito utilizada em pesquisas genéticas por ter apenas 4 pares de cromossomos e ciclo de vida curto (apenas 2 semanas).

de linfócitos com anormalidades em função da idade (ARKING, 2006). Apesar de alguns gerontologistas considerarem Medawar como pioneiro dessa ciência, diversos pesquisadores questionam a validade de sua teoria por sua simplicidade na explicação dos mecanismos de envelhecimento de outras espécies, principalmente dos mamíferos (GOLDSMITH, 2006). De qualquer forma, esta teoria serviu como ponto de partida para outras, desenvolvidas posteriormente com mais detalhes, como a teoria da mutação somática ou dos radicais livres (ARKING, 2006).

2.3.3.2 Teoria do corpo descartável (TCD)

A TCD foi publicada pela primeira vez em 1977, pelo estatístico e atualmente biólogo e professor de Medicina da Universidade de Newcastle, Thomas Kirkwood. Baseia-se na idéia de que o organismo possui uma quantidade limitada de energia, que é distribuída entre as atividades reprodutiva e de manutenção dos aspectos não-reprodutivos (soma). O envelhecimento é resultado de processos degenerativos naturais, causados pela acumulação de danos, mas esses danos podem ser reparados pelo organismo durante o período reprodutivo. Como há um declínio no impacto evolucionário em animais mais idosos (como defende a teoria de Medawar), não faz sentido gastar energia na manutenção do indivíduo após o período reprodutivo, já que essa energia é necessária nas etapas mais jovens da vida (GOLDSMITH, 2006). A idéia básica desta teoria é a de que a manutenção somática somente é realizada para efeitos reprodutivos e torna-se desnecessária após essa fase. Há um equilíbrio entre os recursos investidos na longevidade e/ou na função reprodutiva, o que define a duração de vida do organismo (KIRKWOOD; AUSTAD, 2000; WEINERT; TIMIRAS, 2003).

Essa teoria utiliza conceitos da redução da seleção natural (Weismann) e dos danos acumulativos, sem confrontar a teoria evolutiva de Darwin. As principais críticas se referem à dificuldade de comprovar o mecanismo desse gasto energético, já que a manutenção somática na maturidade é muito menos dispendiosa do que os esforços iniciais de desenvolvimento do indivíduo até que atinja a fase reprodutiva. Outra linha crítica alega que, cessada a necessidade de dispêndio de energia para fins reprodutivos, essa energia estaria toda disponível para a manutenção somática, o que resultaria num reforço do organismo ao invés

de seu declínio. Há ainda a questão da diferença de longevidade entre os gêneros: se as fêmeas/mulheres gastam muito mais energia na fase reprodutiva do que os machos/homens, porque sua longevidade, em geral, é maior do que a destes? Se for considerado, também, que a energia necessária para a sobrevivência de um organismo vem de sua alimentação, essa teoria também dá margem a controvérsias, pois sua limitação não seria inerente ao indivíduo e sim a seus hábitos alimentares (GOLDSMITH, 2006).

Há diversas outras linhas críticas a essa teoria, muitas baseadas em exemplos encontrados em espécies específicas. Nas comunidades de insetos eusociais⁶, como as abelhas e formigas, os indivíduos dedicados à reprodução têm longevidade muito superior àqueles que se dedicam apenas ao trabalho de manutenção da colônia, chegando essa diferença a ser superior a cem vezes. Enquanto uma abelha operária vive algumas semanas, a rainha chega a viver vários anos, apesar de ambas serem originárias dos mesmos tipos de ovos, postos pela mesma reprodutora e fertilizados pelos mesmos machos, sendo a diferenciação causada apenas por componentes hormonais e alimentares que são fornecidos às larvas (KIRKWOOD; AUSTAD, 2000).

Alguns estudiosos defendem, também, que essa teoria explica porque vivemos durante um determinado período de tempo, mas não o porquê de envelhecermos (WEINERT; TIMIRAS, 2003).

2.3.3.3 Pleiotropia antagonista

Em 1957, George Williams, professor da Universidade Estadual de Michigan, propôs que alguns alelos ou genes poderiam afetar mais de uma característica morfológica (pleiotropia), como ocorre, por exemplo, em algumas doenças com causas genéticas, que podem alterar, simultaneamente, características neurológicas, ósseas, dermatológicas, etc. Partindo dessa hipótese, Williams assumiu que diversos genes pleiotrópicos poderiam, também, ser benéficos nas idades mais jovens, mas passariam a ser prejudiciais após a maturidade (GOLDSMITH, 2006).

⁶ Os insetos eusociais são aqueles que apresentam sociedades complexas, formadas por três principais características: a convivência de diversas gerações no mesmo espaço, a divisão de tarefas (operários e reprodutores) e o cuidado cooperativo com a prole.

Um dos problemas apontados em desfavor dessa teoria refere-se aos casos de espécies que se reproduzem em idades mais avançadas. Nesses indivíduos, a seleção evolutiva não só se aplicaria à sobrevivência até a idade reprodutiva, mas também à garantia de alta fecundidade nessa idade. Assim, não haveria uma diferenciação entre o aumento da longevidade e o aumento na fecundidade tardia, sob o ponto de vista genético e evolucionário (ZWAAN, 1999).

Esta teoria, entretanto, tem encontrado apoio parcial de alguns trabalhos, que consideram sua hipótese válida mas ressaltam, entretanto, que ela é apenas parte do processo de envelhecimento, mas não sua causa principal (LE BOURG, 2001).

2.3.3.4 Regulação genética

Esta teoria defende que o envelhecimento é causado pela mudança na expressão de genes responsáveis tanto pelo desenvolvimento quanto pelo envelhecimento. Em princípio parece óbvio que pode haver uma mudança na forma de expressão genética com o passar dos anos, mas ainda não foi bem esclarecido se essa mudança é causa ou consequência do envelhecimento.

Alguns autores defendem que a longevidade é consequente de interação entre fatores genéticos e ambientais (SCHWEITZER; ALESSIO, 2006), enquanto outros acreditam que essa alteração é resultado de diversos outros fatores internos e externos ao organismo, podendo haver, até, alguma expressão genética que proteja o organismo do envelhecimento, ou seja, que atue de maneira contrária ao que essa teoria afirma (TROEN, 2003). Neste último caso, os pesquisadores se baseiam, por exemplo, em evidências de que há um componente genético em famílias longevas, cujos componentes atingem idades mais avançadas sem desenvolver problemas de saúde característicos das pessoas mais idosas.

2.3.3.5 Catástrofe de erros

A teoria da catástrofe de erros foi desenvolvida originalmente pelo químico inglês Leslie Orgel, em 1963, e se baseia na premissa de que a habilidade da célula para produzir os complementos normais de suas proteínas funcionais depende não só da especificação genética correta das sequências peptídicas mas também da competência e da fidelidade do mecanismo de síntese dessas proteínas (ARKING, 2006). Ou seja, acrescenta outros fatores à teoria de mutação somática que será vista a seguir.

Durante a síntese de proteínas, eventuais erros são simplesmente descartados pela substituição das moléculas por outras corretas, de acordo com o "modelo" presente no DNA das células e tecidos encarregados desse processo. Um erro provocado nesse modelo pode fazer com que as células-filhas passem a sintetizar proteínas com o mesmo erro, dando origem a um acúmulo incompatível com sua função e até com a manutenção da vida (TROEN, 2003).

Apesar de haver diversos trabalhos relatando a presença de proteínas alteradas na velhice, essas mudanças são provocadas por fatores posteriores e não relacionados com sua síntese, tais como a oxidação (ver a teoria dos radicais livres a seguir) ou a glicação⁷ (TROEN, 2003). Os trabalhos realizados para verificação da validade dessa teoria também não conseguiram comprová-la (WOJTYK; GOLDSTEIN, 1980; TROEN, 2003).

2.3.3.6 Mutação em célula somática

Essa teoria defende que o processo de envelhecimento é determinado por anormalidades cromossômicas, causadas por mutações ou por danos à estrutura química do DNA. Note-se que os termos "mutação" e "dano" não são sinônimos. O primeiro refere-se a mudanças na sequência dos nucleotídeos em que pares AT (adenina-timina) ou CG (citosina-guanina)⁸ são acrescentados, apagados, substituídos ou rearranjados dentro da cadeia. Essa mudança causa alterações sérias na informação codificada, apesar do DNA continuar com a

⁷ A glicação é a reação inespecífica (não enzimaticamente catalisada) de glicose a uma biomolécula, normalmente uma proteína, onde se formam os chamados produtos de glicação avançada ('ages', em língua inglesa).

⁸ Os pares adenina-timina (AT) e citosina-guanina (CG) são as bases de formação do DNA.

aparência de uma molécula normal. Já nos danos, há alterações químicas que interrompem, modificam ou rompem a dupla hélice do DNA, não causando, entretanto, mudança nas informações ali contidas (ARKING, 2006).

Um dos problemas dessa teoria é que alguns estudos feitos em tecidos normais mostraram que estes continuavam a envelhecer mesmo sem a presença de qualquer dano cromossômico, o que indicaria a presença de outro fator causal. Dessa forma, reforça-se a idéia de que essas alterações possam ser efeito e não causa do envelhecimento (LE BOURG, 2001; TROEN, 2003; WEINERT; TIMIRAS, 2003; ARKING, 2006).

Trabalhos mais recentes admitem ser difícil estabelecer uma relação de causa-efeito entre o declínio na capacidade de regeneração do DNA e o envelhecimento, o que levaria ao acúmulo das mutações, considerando-se que a grande diferença entre a longevidade das espécies estudadas pode levar ao questionamento de quanto esses mecanismos de reparo imperfeitos interferem no funcionamento dos organismos (ARKING, 2006; GORBUNOVA et al, 2007).

Os estudos que se referem a outras teorias, tais como a teoria dos telômeros e a dos radicais livres estão intimamente ligados à teoria de mutação somática, o que lhe confere plausibilidade mas não exclusividade como causa do envelhecimento.

2.3.3.7 Desdiferenciação

Apesar de todas as células de um mesmo organismo conter a mesma informação genética, alguns tipos de células expressam somente uma parte dessa informação de cada vez. Como exemplos podem ser citadas as células vermelhas do sangue, as únicas a produzirem hemoglobina, ou as células da retina, que produzem proteínas fotossensíveis. Essa especialização é ocasionada pelos tipos de proteínas sintetizados em cada célula, que são transcritas a partir de alguns genes e não de outros (TIMIRAS, 2003).

Esta teoria defende que os erros na síntese dessas proteínas especializadas se devem a danos moleculares que provocam a expressão aberrante dos genes, ou seja, as células passam a sintetizar proteínas que não são próprias de sua função, em razão de alterações nos mecanismos de ativação/desativação dos genes, causadas pelo envelhecimento (TIMIRAS, 2003; ARKING, 2006).

Assim como a teoria da catástrofe de erros, esse processo já foi observado em algumas situações particulares em laboratório, mas não possui consistência suficiente para se firmar como eventual causa do envelhecimento, já que a capacidade do organismo descartar as células defeituosas se mostrou mais efetiva do que os efeitos que estas poderiam provocar no funcionamento geral dos tecidos. Possivelmente o surgimento de alguns tipos de câncer esteja relacionado a alguma forma de desdiferenciação, mas, nesse caso, trata-se de uma doença e não de um processo natural de envelhecimento (ARKING, 2006).

2.3.3.8 Envelhecimento celular - Teoria dos telômeros

A teoria do envelhecimento celular começou a se formar na década de 1930, quando os geneticistas norte-americanos Barbara McClintock e Hermann Muller, em diferentes trabalhos propuseram a hipótese de que o DNA possui estruturas diferenciadas em suas extremidades, responsáveis pela estabilidade dos cromossomos. Muller utilizou o termo "telômero", originário do grego *telos* (fim) e *meros* (parte) e McClintock observou que sem essas estruturas, os cromossomos se fundiam ou rompiam durante a mitose, prejudicando a célula (CANO, 2006; AUBERT; LANSDORP, 2008).

Durante a divisão celular, algum material dos telômeros é perdido, tornando-os mais curtos. Ao atingir um determinado tamanho mínimo, a célula para de se dividir, entrando em senescência. O tamanho mínimo dos telômeros e o número de divisões possíveis variam de acordo com o organismo e com o tipo de célula. Algumas possuem uma enzima que se encarrega de repor o material perdido, recuperando os telômeros. Essa enzima, denominada telomerase, entretanto, não está presente em todas as células nem atua com igual intensidade. Aquelas que possuem telomerase e conseguem mantê-la em funcionamento indefinidamente são denominadas "imortais", o que ocorre, por exemplo, com as células tumorais, nas células-tronco e nas células germinativas (óvulos e espermatozóides) (ALHO, 2006; CANO, 2006).

A teoria do envelhecimento celular se baseia na hipótese de que, com o tempo, o número de células que perde a capacidade de se duplicar, em razão do encurtamento dos telômeros, atinge um limite que não consegue ser repostado pelo organismo, levando-o ao envelhecimento como um todo.

Um exemplo desse fenômeno pode ser observado na clonagem da ovelha Dolly. Como o material genético utilizado foi retirado de um animal adulto, os telômeros eram menores do que o seriam em células germinativas normais, o que provocou o aparecimento de doenças como a artrite, que não eram compatíveis com sua idade biológica (CANO, 2006; AUBERT; LANSDORP, 2008).

Experiências realizadas nas últimas décadas demonstraram que fibroblastos humanos adultos, nos quais foi artificialmente implantado um gene ativador da telomerase, recuperaram sua capacidade de divisão, reforçando a hipótese da ligação entre o encurtamento dos telômeros e o envelhecimento. Alguns trabalhos ainda suportam a idéia de que o envelhecimento seria um mecanismo de proteção do organismo contra a proliferação de células tumorais (ALHO, 2006; CANO, 2006).

As principais críticas a esta teoria não se referem a sua idéia básica e sim à falta de uma comprovação definitiva de que o mecanismo de encurtamento dos telômeros é independente, ou seja, não é causado por outros fatores internos ou externos. Esse questionamento se baseia, em parte, à grande diferença de longevidade entre exemplares da mesma espécie quando expostos a estilos de vida e situações ambientais diversas.

2.3.3.9 Radicais livres (ou dano oxidativo)

Esta teoria foi elaborada pelo biogerontologista norteamericano Denham Harman, em 1956. É a que tem recebido mais atenções nos últimos anos por, aparentemente, ser a que mais se aproxima de uma causa primária do envelhecimento, podendo explicar, também, outras teorias que se baseiam em danos celulares ou ao DNA.

Com exceção dos organismos adaptados para viver em ambientes anaeróbicos, todos os demais dependem do oxigênio para a produção de energia. Aproximadamente 95% de toda a energia metabólica é produzida pelas mitocôndrias, organelas celulares responsáveis pela combinação das moléculas de carbono, originárias da alimentação, com o oxigênio, obtido na respiração. Sem esse mecanismo de conversão, o organismo morre (ARKING, 2006).

Apesar de o oxigênio ser indispensável para a manutenção da vida, paradoxalmente seu excesso é tóxico para a maioria das plantas e animais. No homem, por exemplo, a exposição por longos períodos a um ambiente com oxigênio puro causa desconforto

respiratório e pode levar a danos irreversíveis nos alvéolos pulmonares, hemorragia no ouvido interno, surdez, etc (ARKING, 2006).

Um radical livre é qualquer espécie química que possua um elétron desemparelhado na camada de valência. A maioria dos compostos possui um número par de elétrons e por isso são mais estáveis. Para reagir com outros elementos, eles precisam de condições catalisadoras que provoquem a reação. Os radicais livres são altamente reativos exatamente pela busca constante de combinação com outros elementos que possam "ceder" um elétron para complementar um número par (BECKMAN; AMES, 1998; ARKING, 2006).

Nos organismos vivos, os radicais livres são produzidos pelo processo metabólico de oxidação, ocorrido dentro das mitocôndrias. Nas células normais, os radicais livres são mantidos sob controle e são reduzidos para a produção de outras substâncias. Nas células danificadas, esses mecanismos de proteção não funcionam adequadamente, permitindo que os radicais livres prejudiquem outras estruturas da célula, já que os lipídios, os ácidos nucleicos e as proteínas são altamente suscetíveis a esse ataque. O acúmulo de danos provocados por essas reações anormais seria a causa do envelhecimento celular (BECKMAN; AMES, 1998; ARKING, 2006).

Em laboratório, diversos estudos parecem confirmar o papel dos radicais livres sobre o envelhecimento. A administração de antioxidantes, como o alfa-tocoferol ou o beta-caroteno, tem demonstrado resultados positivos na prevenção do dano celular provocado pelos radicais livres, pelo menos nos estudos *in vivo* com mamíferos. Mas a complexidade do processo de envelhecimento ainda não permite considerar esse fator isoladamente como causa da senescência (BECKMAN; AMES, 1998).

2.3.3.10 Desgaste (*wear-and-tear*)

Provavelmente, esta seja uma das mais antigas teorias sobre as causas do envelhecimento, até porque possui conexão com algumas das outras. Foi elaborada pelo biólogo alemão August Weismann, em 1891, a partir da observação dos constantes danos ocorridos nas células causados pela exposição a infecções ou ferimentos. Com o tempo, o acúmulo desses danos provocaria uma redução na eficiência funcional de reparo do organismo, causando o envelhecimento (ARKING, 2006). É uma analogia com um tecido,

por exemplo, que após sofrer desgaste constante acaba por se esgarçar e rasgar, perdendo sua resistência original.

De maneira genérica, essa teoria possui semelhança com a dos radicais livres ou dos telômeros. Mas há diversas críticas que questionam sua validade. É o caso de animais mantidos em laboratório, em condições em que não estão sujeitos a danos provocados por infecções ou ferimentos, mas que nem por isso apresentam maior longevidade. Outra crítica se refere à sua generalização, já que a ciência já avançou o suficiente para buscar causas mais específicas (ARKING, 2006). Apesar de estar claro que o dano oxidativo se acumula com a idade, ainda não se conseguiu explicar como esse processo contribui para o envelhecimento (WEINERT; TIMIRAS, 2003).

2.3.3.11 Neuroendócrina

A teoria neuroendócrina defende que o envelhecimento é causado pela redução funcional dos neurônios e dos hormônios a eles associados. Uma das vertentes propõe que o eixo hipotálamo-pituitária-adrenal (HPA) seja o principal regulador desse processo. Essa teoria se baseia no papel dos hormônios sobre as fases iniciais dos mecanismos de crescimento e reprodução do ser humano, além de regular diversas outras funções metabólicas durante toda a vida (TROEN, 2003).

Em ratos, já foi observado que a redução na neurotransmissão dopaminérgica é mais significativa em indivíduos com menor longevidade. Além disso, a administração de levodopa, uma droga dopaminérgica, pode prolongar a vida desses animais. Mas esses resultados ainda não conseguiram ser confirmados em seres humanos, o que leva ao questionamento se essa redução neuroendócrina seria causa ou consequência do envelhecimento (TROEN, 2003).

2.3.3.12 Imunológica

Da mesma forma que a teoria neuroendócrina, a teoria imunológica está baseada na

observação de processos que ocorrem durante o envelhecimento, não sendo possível determinar se são causa ou consequência. Os dois principais são a redução na capacidade funcional do sistema imunológico, tornando o indivíduo mais suscetível às infecções, e o aumento das reações autoimunes com o aumento na idade (TROEN, 2003).

2.3.3.13 Ritmo de vida (*rate-of-living*)

Essa teoria defende que a longevidade é inversamente proporcional à taxa metabólica. Por essa teoria, o organismo possuiria uma quantidade predeterminada de energia metabólica que poderia ser utilizada no consumo de oxigênio associado à obtenção da energia para sua manutenção. Quando essa energia termina, o organismo morreria (ARKING, 2006).

Apesar de alguns estudos terem mostrado que, dentro de uma mesma espécie, os animais com menor atividade podem viver mais do que aqueles com atividade mais intensa, esses dados não puderam ser comprovados para outras espécies. As principais críticas se referem à simplificação de que a longevidade estaria relacionada apenas a uma variável, ignorando todos os demais fatores que podem, por exemplo, influenciar a existência de indivíduos mais ou menos longevos dentro de uma mesma espécie (ARKING, 2006).

Como pode ser percebido, algumas teorias se sobrepõem parcialmente a outras, dependendo da linha de pensamento adotada. Nenhuma delas, até o momento, provou ser totalmente verdadeira, apesar da teoria dos radicais livres ter ganhado força nos últimos anos, mostrando ser pelo menos parcialmente responsável pelo envelhecimento celular.

Capítulo 3

Avaliação da correlação entre tremor, variáveis sanguíneas, dados da eletromiografia e da acelerometria

O principal problema do tremor é o prejuízo causado à qualidade de vida do paciente, principalmente naqueles de idade mais avançada. Ainda não há um consenso sobre a origem desse distúrbio e por isso há diversas linhas de estudo com o objetivo de tentar esclarecê-la. Uma dessas linhas tenta encontrar correlação entre alguns sinais biológicos de envelhecimento e as características do tremor. Este trabalho segue essa linha, analisando a fragilidade osmótica dos eritrócitos e as variações observadas nos sinais eletromiográficos e da acelerometria captados em pacientes saudáveis.

Neste capítulo são apresentados a metodologia da pesquisa e os resultados encontrados.

3.1 Métodos

A pesquisa foi desenvolvida na Universidade Federal de Uberlândia, utilizando grupos de voluntários recrutados entre alunos da Faculdade de Educação Física e pacientes do Ambulatório de Geriatria do Hospital de Clínicas. Foram selecionados 44 indivíduos de ambos os gêneros (22 masculino e 22 feminino), com idades entre 24 e 87 anos, sem evidências clínicas ou histórico de distúrbios neuromusculares, atestados por um neurologista.

Esse trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética da Universidade Federal de Uberlândia e todos os indivíduos foram previamente esclarecidos sobre a pesquisa e consentiram em participar voluntariamente.

3.2 Coleta de dados

A coleta de dados foi feita em duas etapas: a coleta de sangue e a medição do tremor.

Na primeira etapa foram coletadas amostras de 10 ml de sangue de cada indivíduo, que foram processadas da seguinte forma:

- a) As amostras de sangue foram adicionadas às soluções salinas (NaCl), a 37°C com as seguintes concentrações: 0,10; 0,20; 0,30; 0,40; 0,42; 0,43; 0,44; 0,46; 0,48; 0,50; 0,53; 0,56; 0,60; 0,70; 0,80; 0,90 e 1,00 g.dL⁻¹;
- b) As soluções foram pré-incubadas em banho-maria por 10 minutos;
- c) Após o pré-aquecimento, foram aquecidas por 30 minutos a 37 °C;
- d) Logo após, as soluções foram centrifugadas a 1300 x *g* durante 10 minutos;
- e) Cada amostra foi levada ao espectrofotômetro (modelo UV-1650, Shimadzu) para leitura da absorbância (A_{540}), que é proporcional à concentração de hemoglobina no meio aquoso externo;
- f) Para cada leitura foi feito o ajuste a uma linha de regressão sigmoideal (Boltzmann), utilizando-se o software OriginLab 7.5 (OriginLab Corporation, EUA).

A linha de transição sigmoideal foi analisada com base na regressão não-linear, utilizando-se a equação de Boltzmann:

$$A_{540} = \frac{A_1 - A_2}{1 + e^{(x-H_{50})/dx}} + A_2 \quad (1)$$

onde A_{540} é a absorção espectrofotométrica de luz visível no comprimento de onda de 540 nm; A_1 e A_2 são, respectivamente, os valores máximos e mínimos de A_{540} ; x é a concentração de cloreto de sódio da solução; H_{50} é a concentração de cloreto de sódio em que ocorre 50% da lise das hemácias e dx é a amplitude de variação da concentração de NaCl na transição sigmoideal entre A_1 e A_2 .

Através desse processo, foi possível obter o índice de concentração salina em que ocorreu o rompimento de metade dos glóbulos vermelhos (H_{50}), e que determina o grau de fragilidade das membranas dos eritrócitos. Ou seja, quanto maior a concentração, maior será a

fragilidade (CUNHA et al, 2007; FREITAS et al, 2008; PENHA-SILVA et al, 2008; FREITAS et al, 2010; MANSUR et al, 2010).

Outros três dados foram obtidos através do software que acompanha o espectrofotômetro (Figura 3.1):

- a) A_1 é o valor de absorvância em 540 nm no patamar alto da sigmóide, onde houve a liberação da maior quantidade possível de hemoglobina a partir dos eritrócitos lisados em condições de baixa concentração salina. A_1 reflete os níveis de hemoglobina e também os valores de hematócrito (percentual do volume ocupado pelos eritrócitos na amostra de sangue) do paciente.

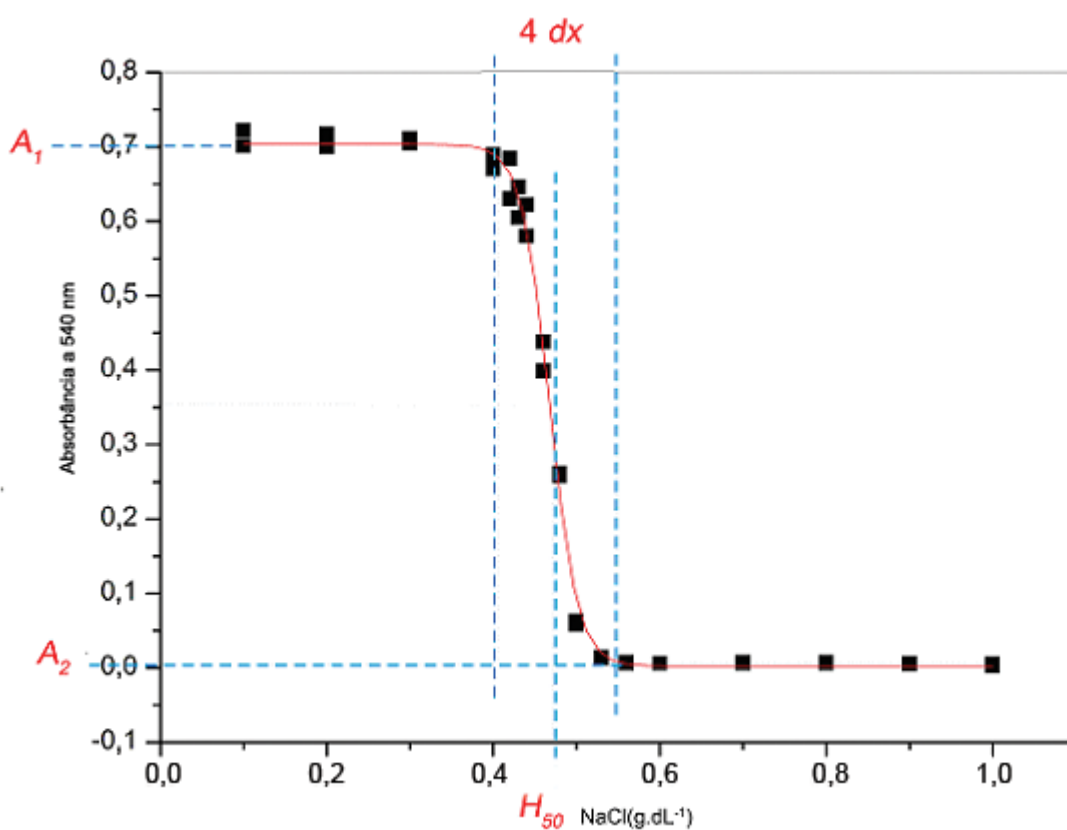


Figura 3.1 - Gráfico gerado pelo software OriginPro 7.5, a partir dos dados do espectrofotômetro, expressando a quantidade de hemoglobina livre nas soluções em função da concentração salina. Em destaque, os parâmetros A_1 , A_2 , dx e H_{50} .

- b) A_2 é o valor de absorvância em 540 nm no patamar baixo da sigmóide, onde a liberação de hemoglobina foi a mínima possível. A_1 indica a quantidade de hemoglobina contida na amostra após sua exposição às condições de baixa

concentração salina. A_2 indica a quantidade residual de hemácias que estavam rompidas em concentrações salinas isotônicas com o sangue.

- c) dx : amplitude da diferença entre a concentração salina (abscissa) em que foram encontrados os pontos A_1 e A_2 ;
- d) H_{50} : concentração salina da solução onde ocorre a lise de 50% das hemácias⁹.

A segunda etapa, consistindo na quantificação do tremor, foi realizada com o indivíduo confortavelmente sentado em uma cadeira de espaldar reto, com a planta dos pés apoiada sobre o chão formando ângulos de 90° entre as costas e o assento, e entre este e as pernas. O antebraço ficou apoiado sobre um pedestal colocado a sua frente, de maneira a formar um ângulo de 90° com o tronco e paralelo ao piso. A 80 cm do pedestal foi colocada uma tela branca onde estava desenhada uma espiral de Arquimedes, de maneira que o centro da espiral ficasse perfeitamente alinhado com a mão do indivíduo, onde foi colocada uma caneta apontadora laser. Inicialmente, o indivíduo foi orientado a permanecer imóvel durante 30 segundos e, seguindo as instruções do pesquisador, percorrer a espiral com o apontador laser nos dois sentidos, ou seja, da parte exterior em direção ao centro e vice-e-versa, com intervalo de repouso de 2 minutos entre cada sequência. O movimento foi realizado com a mão destra. Dessa forma, foi possível coletar os dados em situações estática (repouso) e dinâmica (movimento) (Figura 3.2).

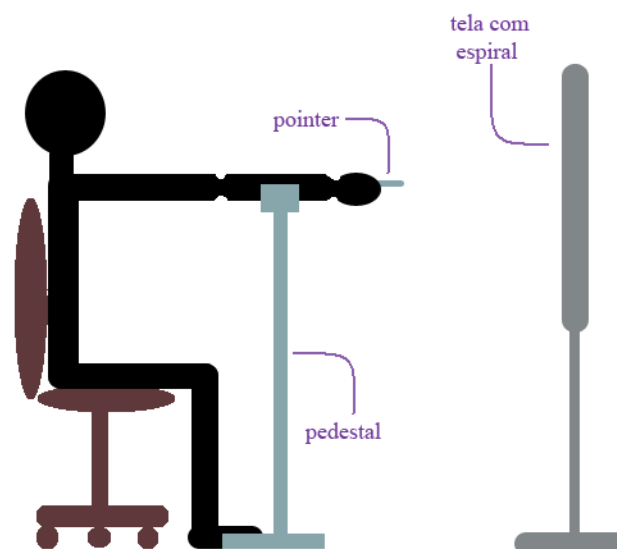


Figura 3.2 - Representação esquemática do protocolo de coleta dos dados.

⁹ O H_{50} é determinado espectrofotometricamente com base no ajuste estatístico não linear (sigmoidal) que utiliza a equação de Boltzmann; o H_{50} é um parâmetro interno da própria equação de Boltzmann.

Durante o experimento, foi posicionado um eletrodo de superfície sobre o músculo extensor ulnar do carpo para registro da atividade eletromiográfica através de um eletromiógrafo (MyosystemBr1-P84, DataHominis Tecnologia Ltda). O acelerômetro triaxial piezoelétrico foi preso à extremidade da caneta laser. Como seu peso é ínfimo, pode-se desconsiderar qualquer interferência na movimentação da caneta ao longo da espiral.

Os dados do EMG e do acelerômetro foram submetidos à ferramenta *Curve Fiting Toolbox*, do Matlab (MathWorks, 2009), para cálculo da coerência entre os conjuntos de dados, utilizando-se a função linear $f(x) = p_1 * x + p_2$, com intervalo de confiança de 95%. A coerência foi avaliada através do valor do R^2 (coeficiente de determinação), ou seja, do quadrado do Coeficiente de Correlação de Pearson, que determina ser a correlação tanto mais perfeita quanto próxima de 1. As características e o funcionamento da ferramenta *Curve Fiting Toolbox* estão descritas no Anexo A.

Para os sinais eletromiográficos coletados foi calculada a entropia aproximada, utilizada para determinar a incerteza ou a variabilidade da sequência de valores. Ou seja, a entropia aproximada (ApEn) calculada do sinal EMG é tanto maior quanto maior for a variabilidade de sua amplitude e frequência.

Para o cálculo da ApEn, são estabelecidos dois parâmetros: o tamanho do intervalo de dados, ou janela (m), e o critério de tolerância ou similaridade (r). Tomada uma série de sinais (s), com N elementos, os padrões a serem comparados são representados por $p_m(i)$, onde i indica a ordem do elemento, dentro da série, que dará início à janela de m elementos. Dois padrões ($p_m(i)$ e $p_m(j)$) são considerados similares quando sua diferença for menor que o critério de tolerância, ou seja, quando $[s(i+k) - s(j+k)] < r$, onde $0 \leq k < m$.

Considerando-se P_m como o conjunto de padrões de tamanho m contidos na sequência, $C_{im}(r)$ será o número de padrões similares a $p_m(i)$ encontrados em P_m , e $C_m(r)$ será a média de todos os $C_{im}(r)$ calculados para P_m .

Dessa forma, tem-se que a entropia aproximada será dada pela equação (2)

$$ApEn(m,r,s) = \ln \left[\frac{C_m(r)}{C_{m+1}(r)} \right] \quad (2)$$

Para maiores detalhes sobre o cálculo da entropia aproximada, pode-se consultar Pincus (1991) e Oliveira et al (2006), por exemplo.

O software residente do EMG forneceu, também, as seguintes medidas, calculadas para cada série de experimentos realizados com os voluntários:

- a) Amplitude máxima e média: o sinal EMG é o registro do potencial de ação das fibras musculares, estimuladas pelo impulso neuronal, o que provoca a despolarização rápida do interior das células, pela mudança na permeabilidade da membrana e a conseqüente entrada abrupta de íons de sódio. Em repouso, as células possuem um potencial aproximado de -80 mV. Com a despolarização, esse potencial pode atingir +20 mV, retornando logo a seguir ao estado anterior (repolarização). O EMG coleta essas variações de voltagem ao longo do tempo (amplitudes), o que permite, pela análise desses valores, calcular os valores máximos, mínimos e médios da série;
- b) RMS: (*root mean square*) a raiz da média dos quadrados dos valores do sinal EMG. Essa medida é importante pois, despreza o sinal da amplitude (positivo ou negativo), considerando a média da energia contida no sinal. Em termos físicos, o RMS fornece a potência do sinal EMG;
- c) Frequência média: o sinal EMG, como já foi dito acima, é o registro das variações de tensão do sinal neuromuscular sob o eletrodo ao longo de um período de tempo. Para que se possa obter a informação da frequência desse sinal é necessária a mudança do domínio, gerando um espectro de densidade de frequência. No caso deste trabalho, a técnica utilizada para o cálculo espectral foi a Transformada de Fourier (FFT). Após essa conversão, é possível calcular a frequência média do sinal pela forma estatística tradicional.
- d) Desvio padrão: outra medida indicativa da variabilidade do sinal, já que quanto maior for o desvio padrão, mais os valores se distanciam da amplitude média do sinal.

Como o tremor ocorre nos três eixos, para os dados do acelerômetro foi calculada a magnitude do vetor aceleração instantânea, através da equação (3):

$$a = \sqrt{x^2(t) + y^2(t) + z^2(t)} \quad (3)$$

Com esses dados, foi calculada a entropia aproximada, da mesma forma que foi feito para o sinal EMG, buscando-se obter a variabilidade da aceleração para cada indivíduo.

3.3 Resultados obtidos

Das correlações feitas com os valores acima descritos, apenas os dados da análise da resistência da membrana com a idade e com a entropia do sinal EMG apresentaram resultados significativos, como será mostrado abaixo. Para as demais, o coeficiente de determinação não foi considerado significativo ($R^2 < 0.8$). Esse limite foi estabelecido para que a significância da correlação entre as variáveis fosse, no máximo, 20% menor do que o valor considerado ideal, ou seja, 1 (correlação estatisticamente perfeita).

3.3.1 A_1 x Idade

Os parâmetros calculados pelo Matlab, além do R^2 (*Root-square*), são os seguintes¹⁰:

- a) SSE (*Sum of Squares due to Error*): quadrados mínimos de erro da correlação
- b) *Adjusted R-square*: valor ajustado de R^2 , ou seja, seu grau de liberdade.
- c) RMSE (*root mean squared error*): erro-padrão. Quanto mais próximo de zero, melhor a modelagem para predição de valores futuros.

Os dados da Figura 3.3 mostram uma correlação bastante significativa ($R^2 = 0,9521$) entre a idade e a quantidade de hemoglobina nas amostras de sangue analisadas. Isso confirma alguns trabalhos que indicam a redução da concentração de hemoglobina em idosos, inclusive com aumento na incidência de anemia nas faixas etárias mais elevadas (NILSSON-EHLE et al, 2000; MILMAN et al, 2008; MANSUR et al, 2010).

¹⁰ Para maiores detalhes sobre esses parâmetros e seu cálculo, consultar o Anexo I.

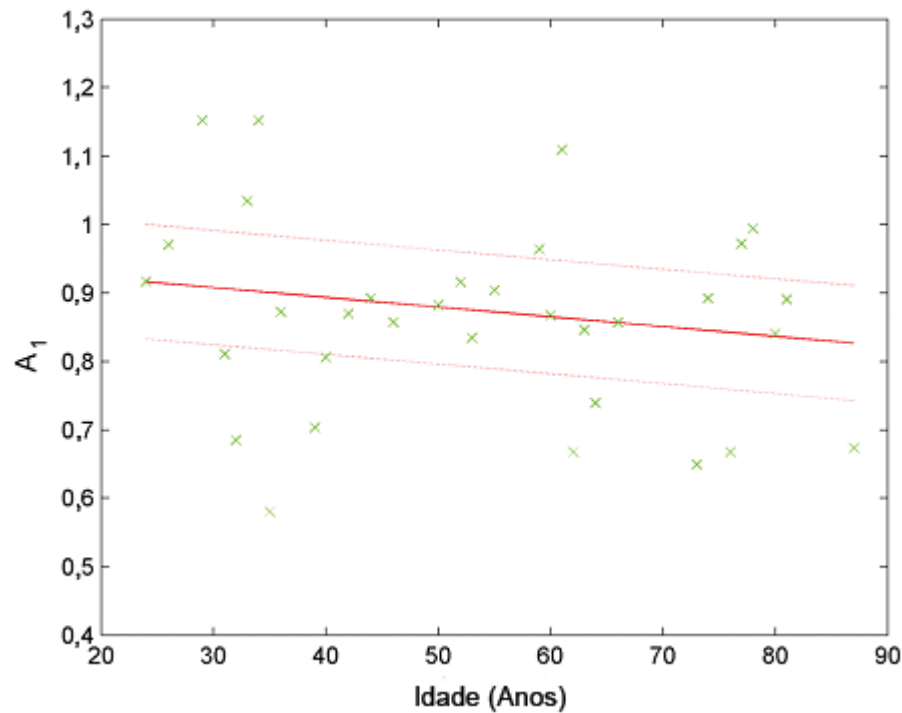


Figura 3.3 - Correlação linear entre A_1 e idade, mostrando uma diminuição na concentração de hemoglobina com o aumento da idade ($R^2 = 0,9521$).

Apesar de não parecer uma redução significativa, o cálculo da correlação mostrou uma diferença de aproximadamente 10% entre a quantidade inicial de hemoglobina dos voluntários na faixa etária 20-30 anos e na faixa entre 80-90 anos. Mesmo havendo situações individuais fora do intervalo de confiança utilizado (95%), esses casos não são significativos (RMSE = 0,04188). A avaliação foi feita com base nos dados individuais dos voluntários.

3.3.2 dx x Idade

A diminuição em dx com o aumento da idade indica que menores variações na concentração de NaCl vão-se tornando capazes de promover lise dos eritrócitos. A diferença entre as faixas etárias (20-30 anos e 80-90 anos) foi de aproximadamente 12% para esta variável. Isso pode indicar a existência de maior fragilidade nas membranas de eritrócitos nos indivíduos mais velhos, embora não se tenha observado a mesma tendência entre os valores de H_{50} e a idade ($R^2 < 0,8$) (Figura 3.4).

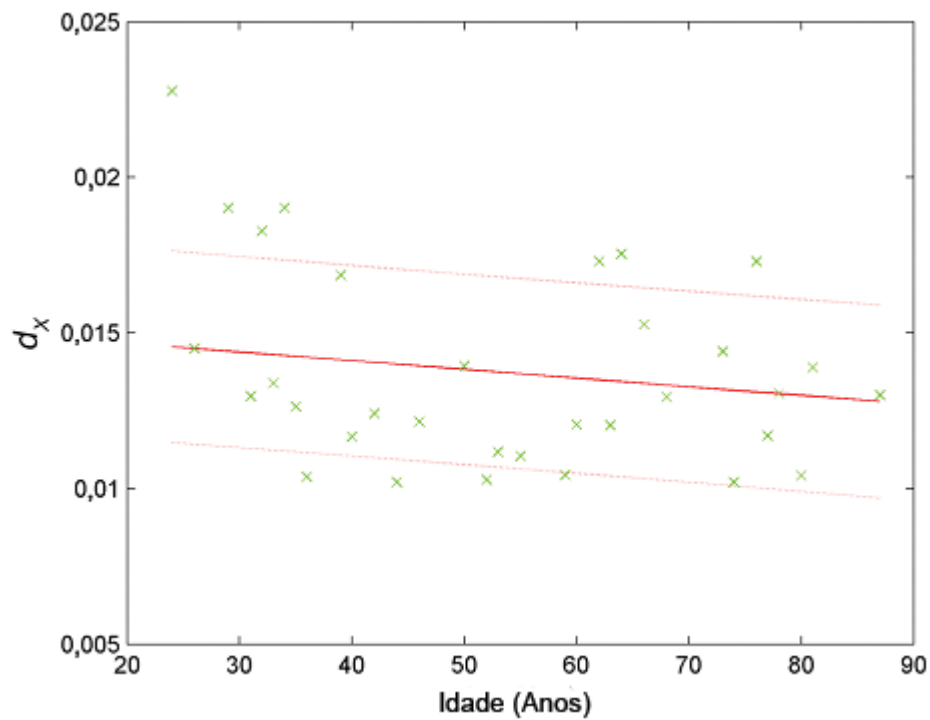


Figura 3.4 - Correlação linear entre dx e idade, mostrando diminuição com a idade no intervalo de concentração de NaCl (dx) necessário para promover a lise completa de toda a população de eritrócitos da amostra ($R^2 = 0,8800$).

3.3.3 Entropia x H_{50} - EMG

Houve correlações significantes entre a entropia do tremor e os valores de H_{50} . Os resultados da correlação entre a entropia dos dados eletromiográficos e o valor da concentração salina em que ocorreu o rompimento de 50% das hemácias (H_{50}) são mostrados, respectivamente, para os experimentos em que o paciente estava com a mão em repouso (Figura 3.5) e movendo o apontador do centro para o exterior (Figura 3.6) e do exterior para o centro da espiral (Figura 3.7).

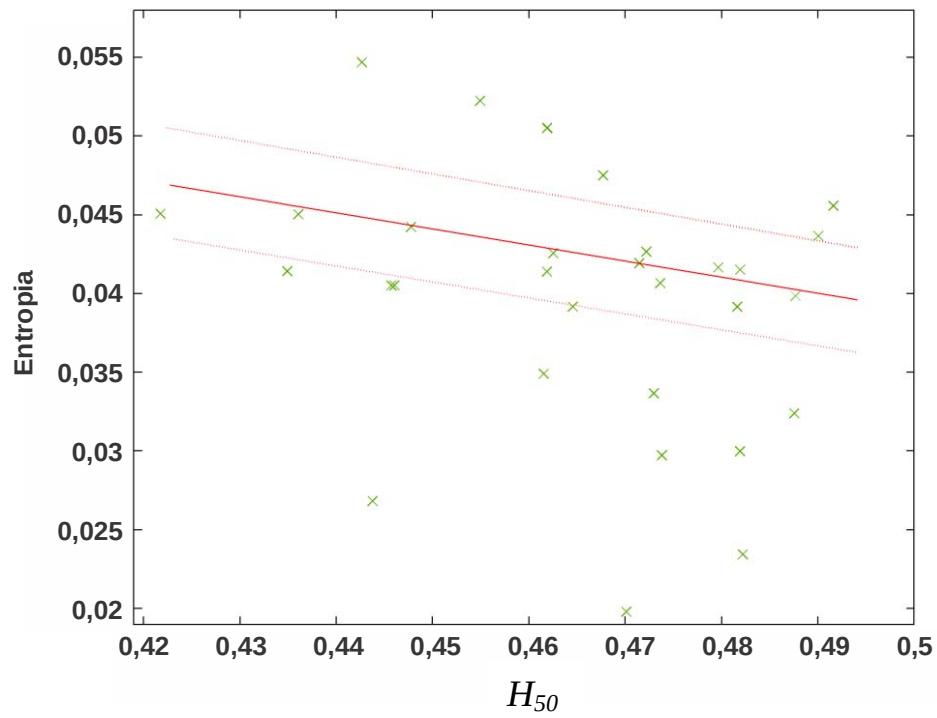


Figura 3.5 - Correlação linear de H_{50} com a entropia aproximada dos dados eletromiográficos associados ao estado de repouso da mão do voluntário no centro da espiral ($R^2 = 0.9397$).

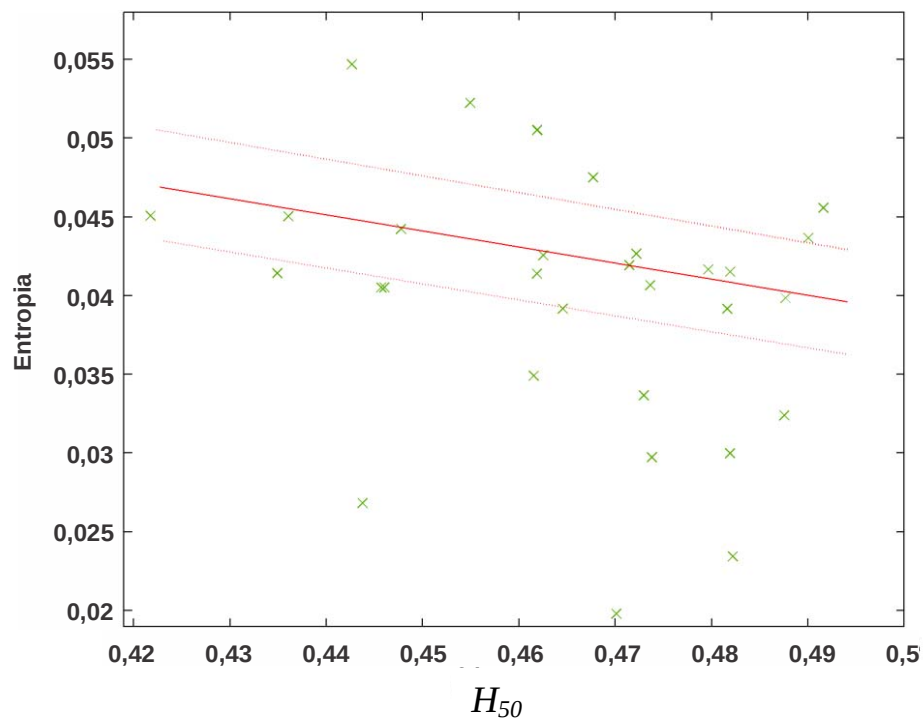


Figura 3.6 - Correlação linear de H_{50} com a entropia aproximada dos dados eletromiográficos associados ao movimento da mão do centro para o exterior da espiral ($R^2 = 0.9374$).

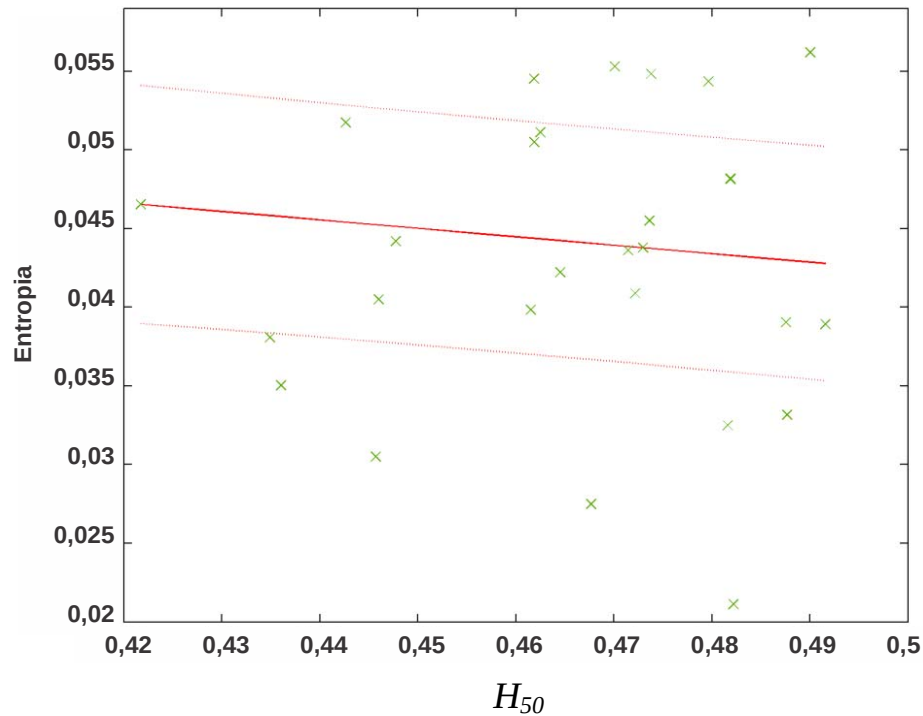


Figura 3.7 - Correlação linear de H_{50} com a entropia aproximada dos dados eletromiográficos associados ao movimento da mão do exterior para o centro da espiral ($R^2 = 0.8350$).

A primeira observação que pode ser feita relaciona-se exatamente a essas diferenças: em repouso, houve uma correlação positiva, ou seja, a variabilidade do tremor aumenta com o aumento na fragilidade osmótica dos eritrócitos, indicada pela maior concentração salina que provoca o rompimento de 50% das células.

Curiosamente, como pode ser visto nas Figuras 3.6 e 3.7, em movimento, a correlação é negativa, ou seja, ocorre o contrário, a variabilidade do tremor medido pelo EMG diminui com o aumento na fragilidade osmótica dos eritrócitos.

3.3.4 Entropia x H_{50} - Acelerômetro

Foram encontrados valores significativos de correlação entre os valores de H_{50} e a entropia aproximada calculada para os dados do acelerômetro nas situações de repouso (Figura 3.8) e de movimento do centro da espiral para o exterior (Figura 3.9).

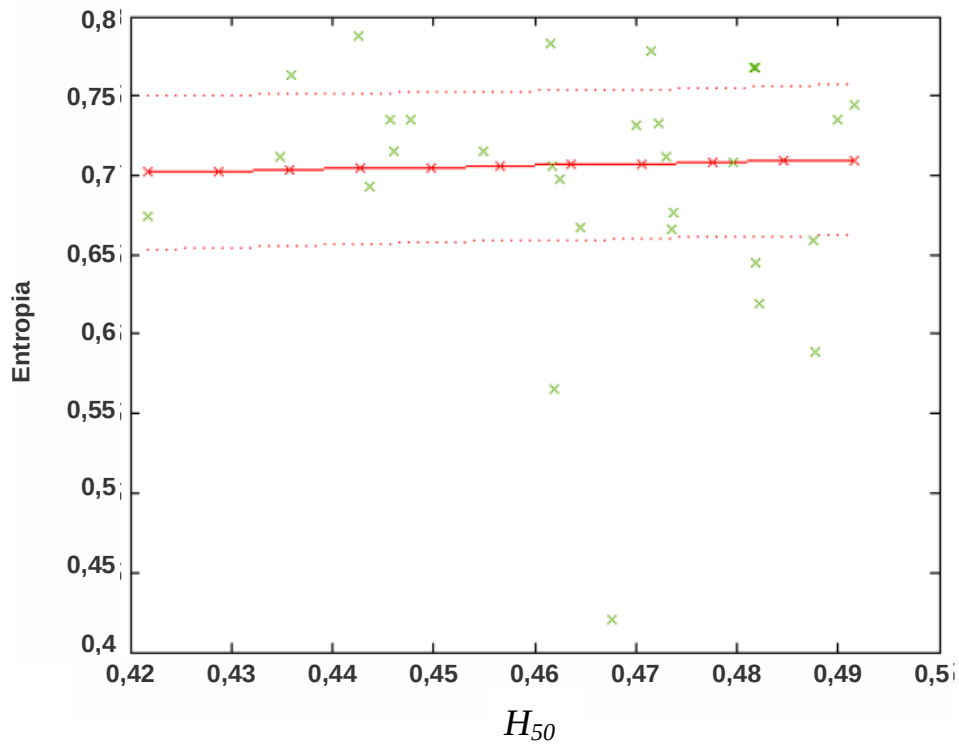


Figura 3.8 - Correlação linear de H_{50} com a entropia aproximada dos dados do acelerômetro no estado de repouso da mão do voluntário no centro da espiral ($R^2 = 0.8662$).

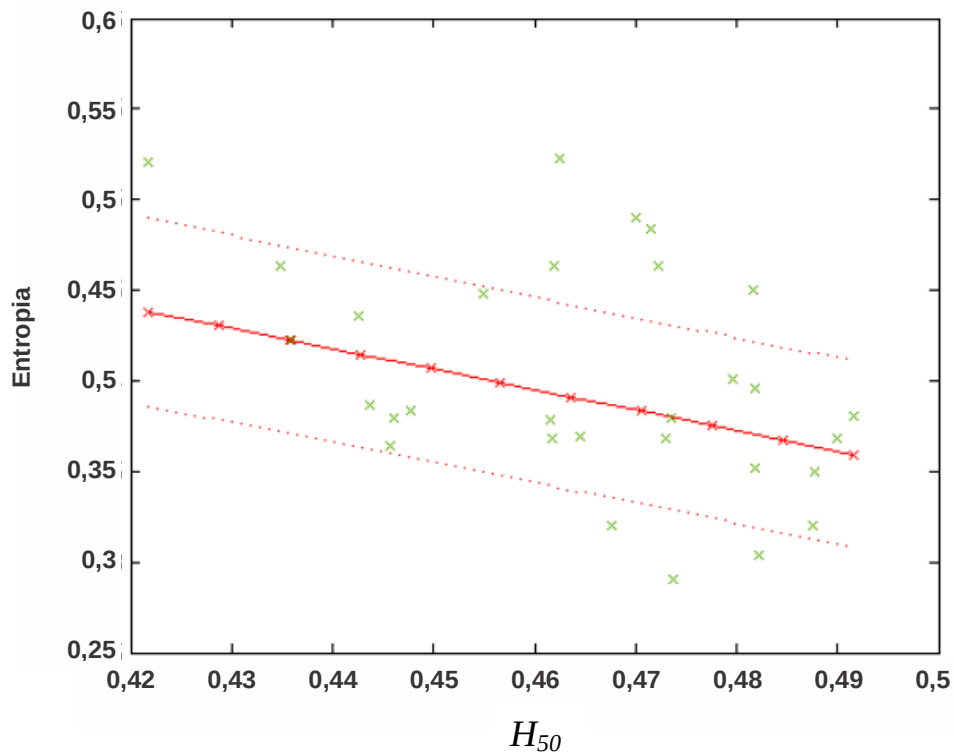


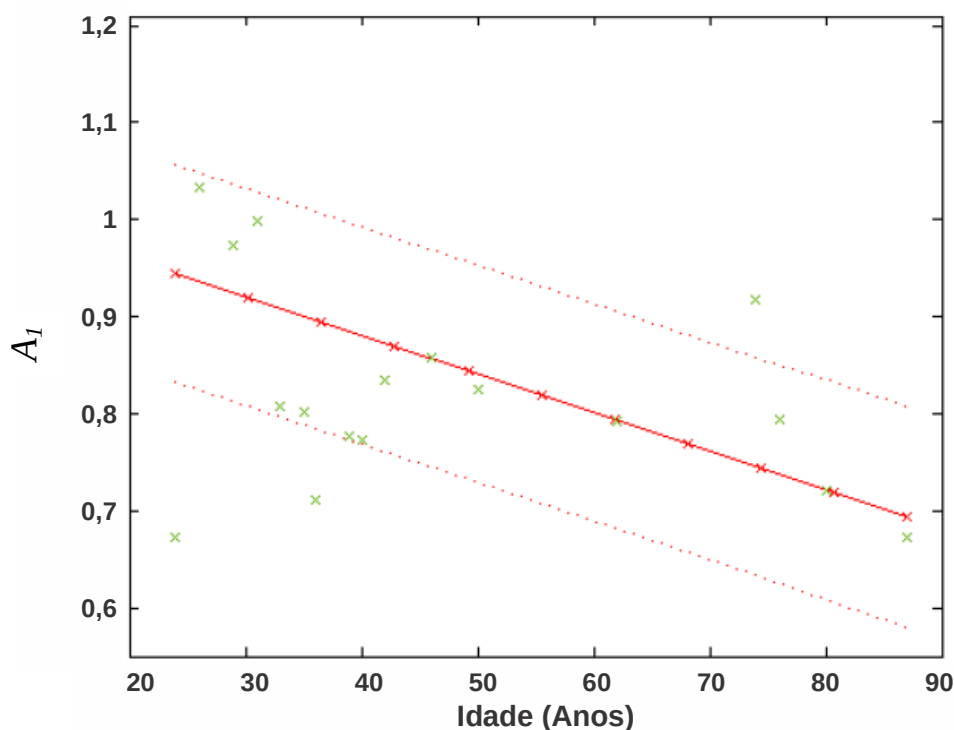
Figura 3.9 - Correlação linear de H_{50} com a entropia aproximada dos dados do acelerômetro associados ao movimento da mão do centro da espiral para o exterior ($R^2 = 0.8248$).

Observe-se que, com a mão parada, a variabilidade da amplitude absoluta do tremor foi praticamente igual para todos os voluntários, indicando que não houve interferência significativa da fragilidade das membranas sobre esses dados.

Já em movimento, foi encontrado resultado compatível ao observado com os dados EMG (Figura 3.6). Quanto maior a fragilidade, menor a variabilidade da amplitude absoluta do tremor. Para o movimento da mão do exterior da espiral em direção ao centro, a correlação não foi considerada significativa ($R^2 = 0,7061$).

3.3.5 A_1 x Idade - Por gênero

Buscando-se identificar eventuais diferenças entre os gêneros, foram calculadas as correlações dos dados separadamente para os voluntários do sexo masculino e feminino. Os resultados dessa correlação para a quantidade de hemoglobina e a idade estão mostrados na Figura 3.10.



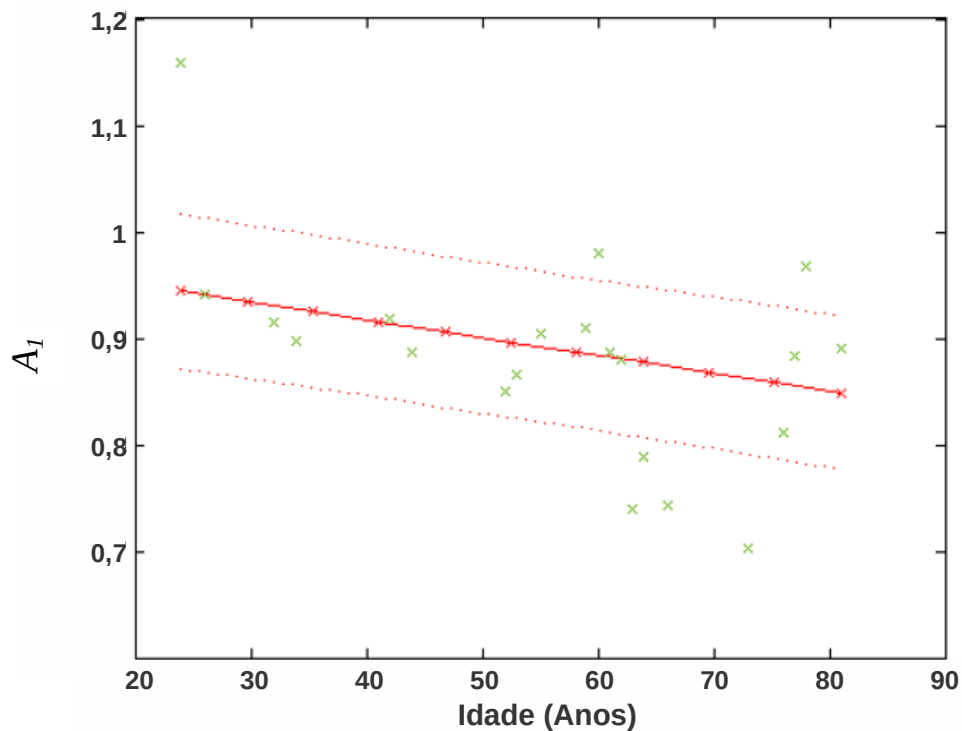


Figura 3.10 - Correlação linear entre A_1 e idade, por gênero, mostrando uma diminuição na concentração de hemoglobina com o aumento da idade. Acima, para os homens e abaixo para as mulheres ($R^2 = 0,8769$ e $R^2 = 0,8577$, respectivamente).

É interessante notar que houve uma queda muito mais acentuada da hemoglobina com a idade para os homens do que para as mulheres, inclusive havendo uma correlação mais significativa para o sexo masculino do que para o feminino.

3.3.6 dx x Idade - Por gênero

Apesar de ter sido encontrada uma correlação significativa nas variações de concentração que provocam a lise dos eritrócitos com a idade para a totalidade dos voluntários, na análise por gênero, essa correlação não se manteve. Para os homens, o coeficiente não foi significativo ($R^2 = 0,7504$). Para as mulheres, o resultado é mostrado na Figura 3.11 e para os homens na Figura 3.12.

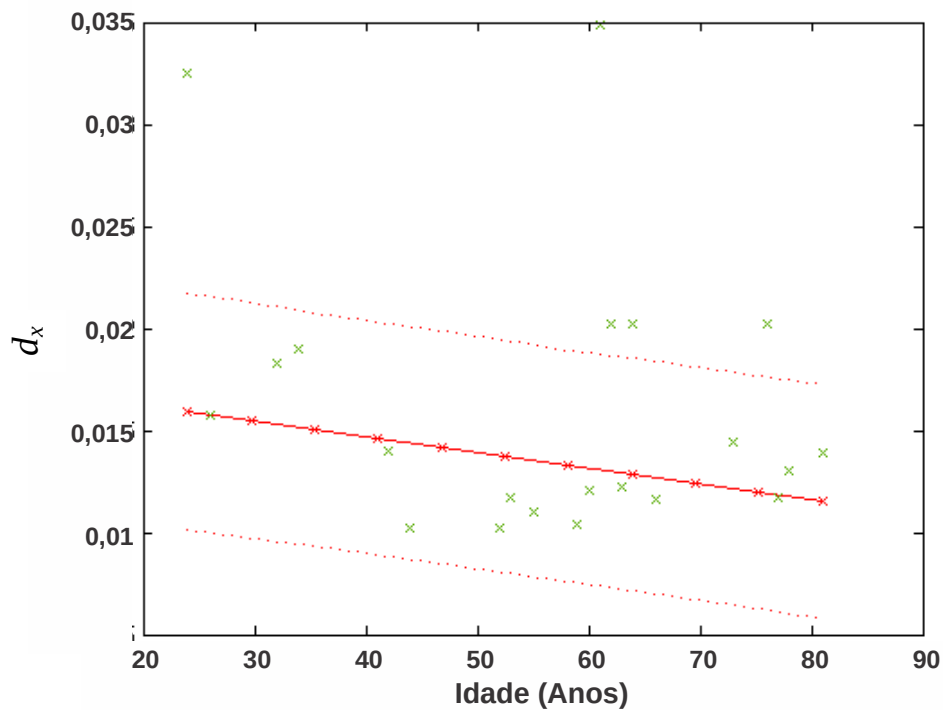


Figura 3.11 - Correlação linear entre dx e idade, para as mulheres, mostrando uma redução na concentração de NaCl para a lise dos eritrócitos com o aumento da idade ($R^2 = 0,8219$).

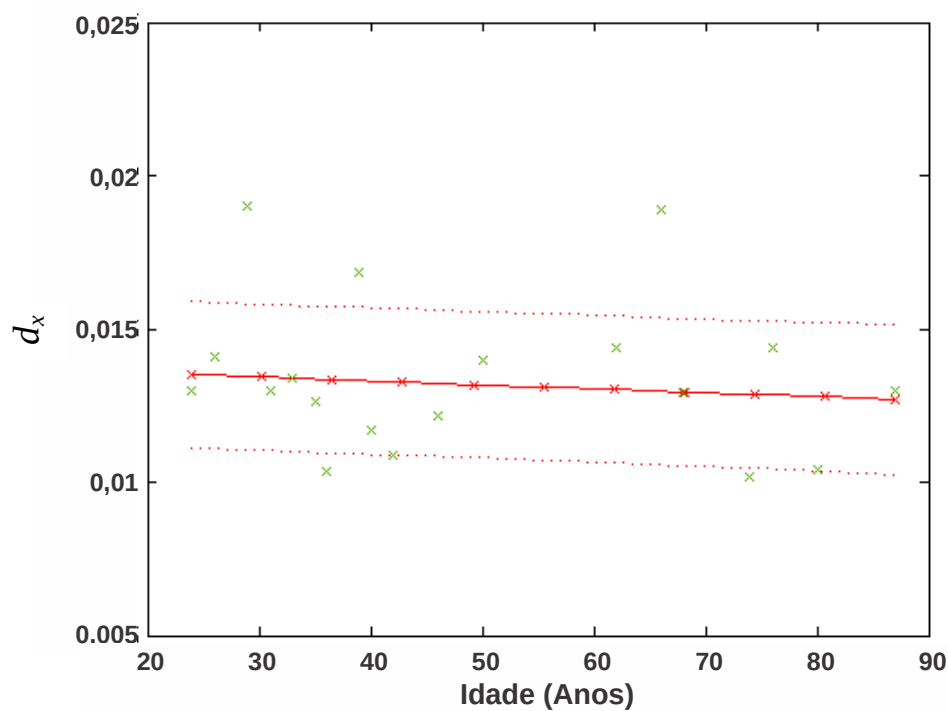


Figura 3.12 - Correlação linear entre dx e idade, para os homens, mostrando uma redução na concentração de NaCl para a lise dos eritrócitos com o aumento da idade ($R^2 = 0,7504$).

Deve-se observar que, para as mulheres, essa redução foi mais acentuada com a idade do que para os homens. Além disso, a diferença nos coeficientes pode ser atribuída à redução

no tamanho da amostra, já que a correlação para todo o grupo foi mais significativa ($R^2 = 0,8800$).

3.3.7 Entropia x H_{50} - EMG - Por gênero

A variabilidade dos sinais EMG correlacionada com a idade dos indivíduos divididos por gênero é mostrada nas Figuras 3.13 a 3.15.

Em repouso, apesar de ter sido encontrada correlação significativa para ambos os gêneros, confirmando os resultados obtidos para o grupo, entre as mulheres houve um aumento mais acentuado da variabilidade em relação à fragilidade da membrana. Para elas, a correlação desses dois fatores também foi mais significativa.

Em movimento, contudo, a redução da variabilidade do sinal EMG foi mais acentuada para os homens. Para as mulheres praticamente não houve variação na entropia aproximada do sinal com o aumento da fragilidade da membrana dos eritrócitos.

Ao contrário do movimento anterior, quando o acompanhamento da espiral se deu do exterior para o centro, nas mulheres o aumento na fragilidade dos eritrócitos provocou uma redução mais acentuada na entropia aproximada do sinal EMG.

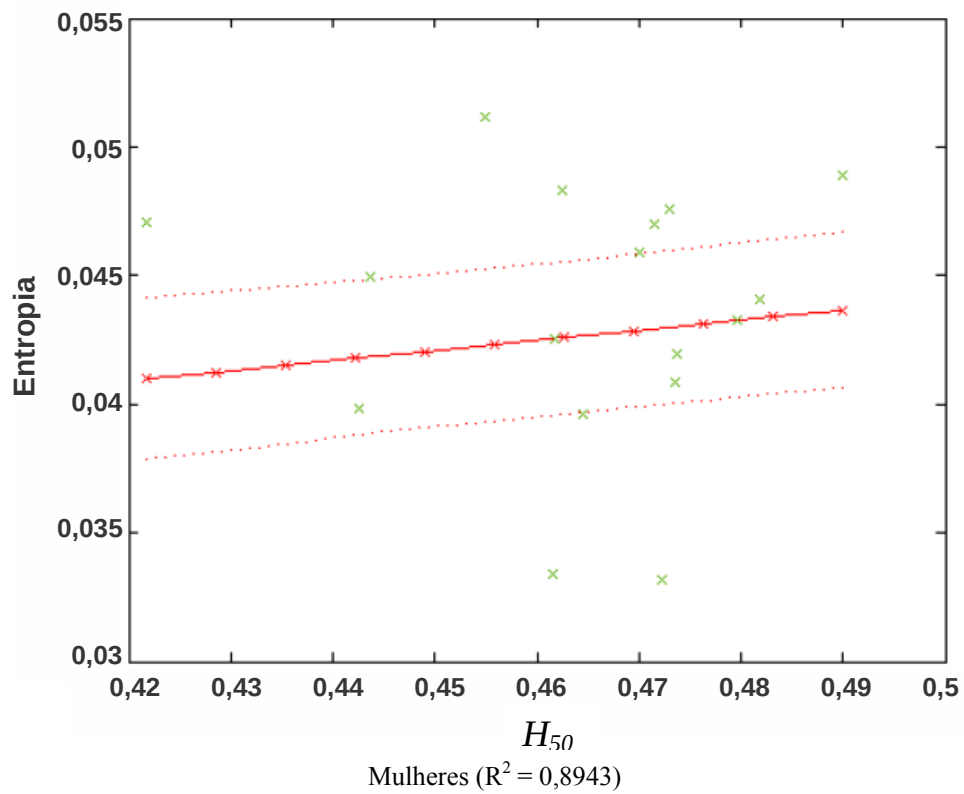
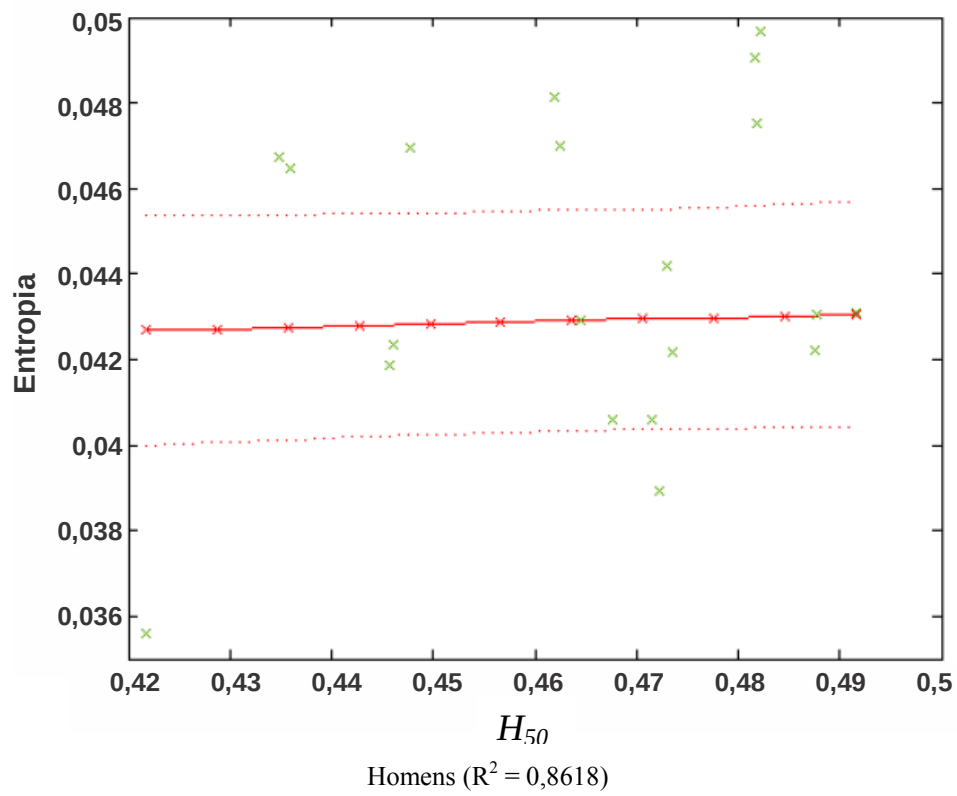


Figura 3.13 - Correlação linear entre entropia aproximada do sinal EMG e o valor da concentração salina em que ocorreu o rompimento de 50% das hemácias (H_{50}), por gênero. Em estado de repouso.

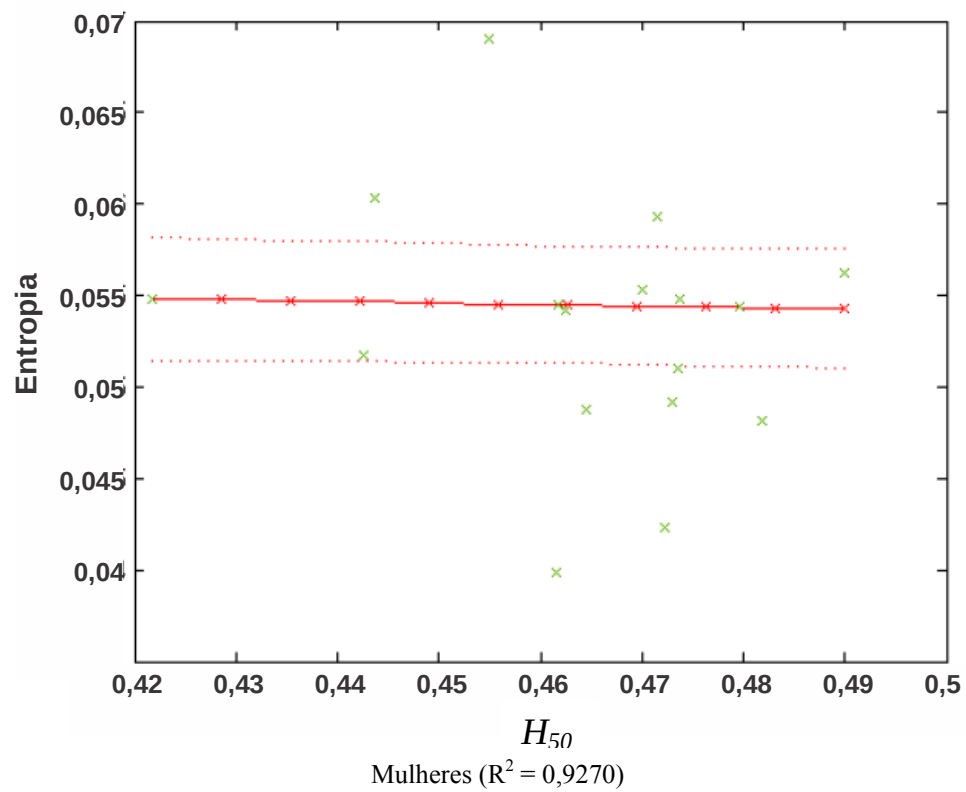
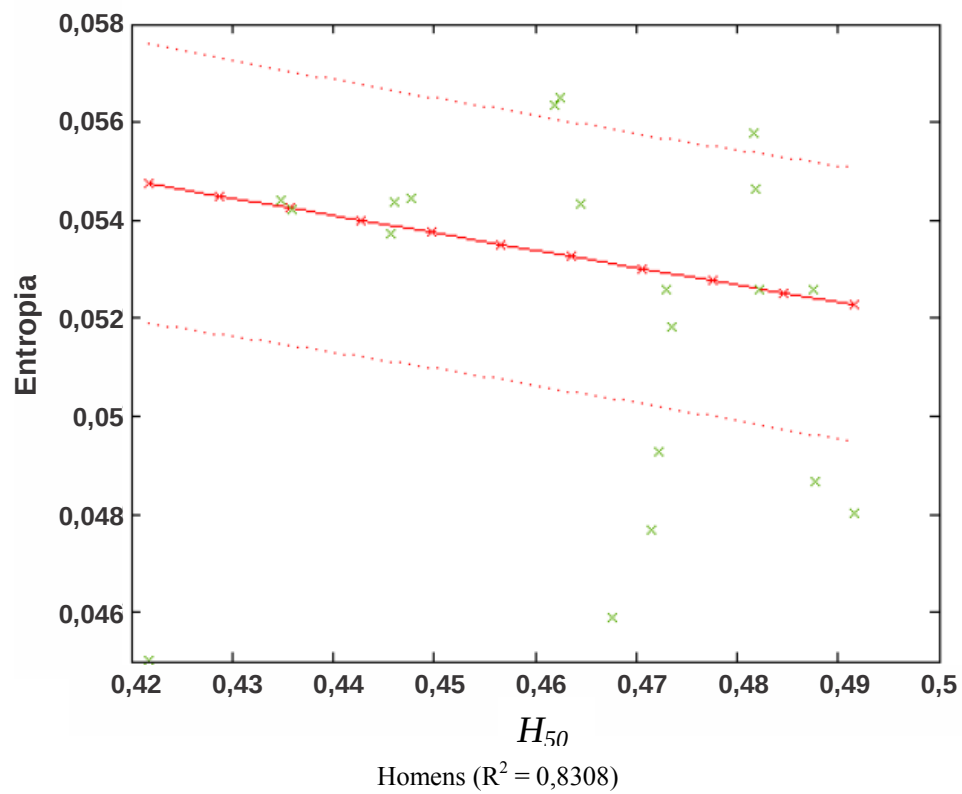


Figura 3.14 - Correlação linear entre entropia aproximada do sinal EMG e o valor da concentração salina em que ocorreu o rompimento de 50% das hemácias (H_{50}), por gênero. No movimento do centro para o exterior da espiral.

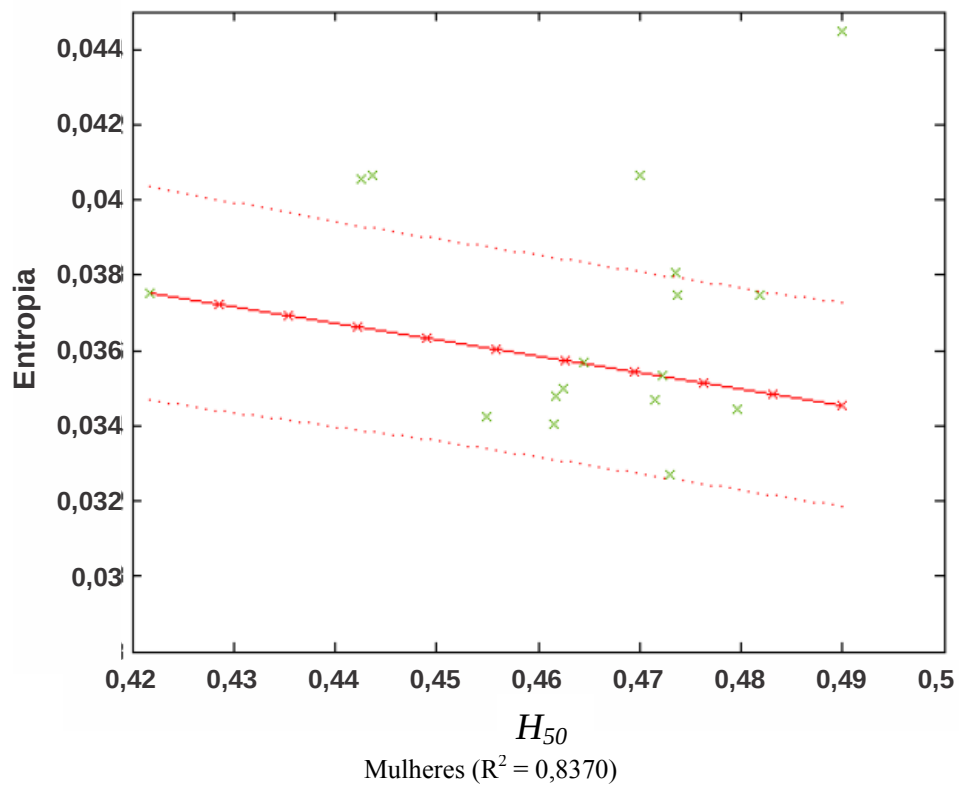
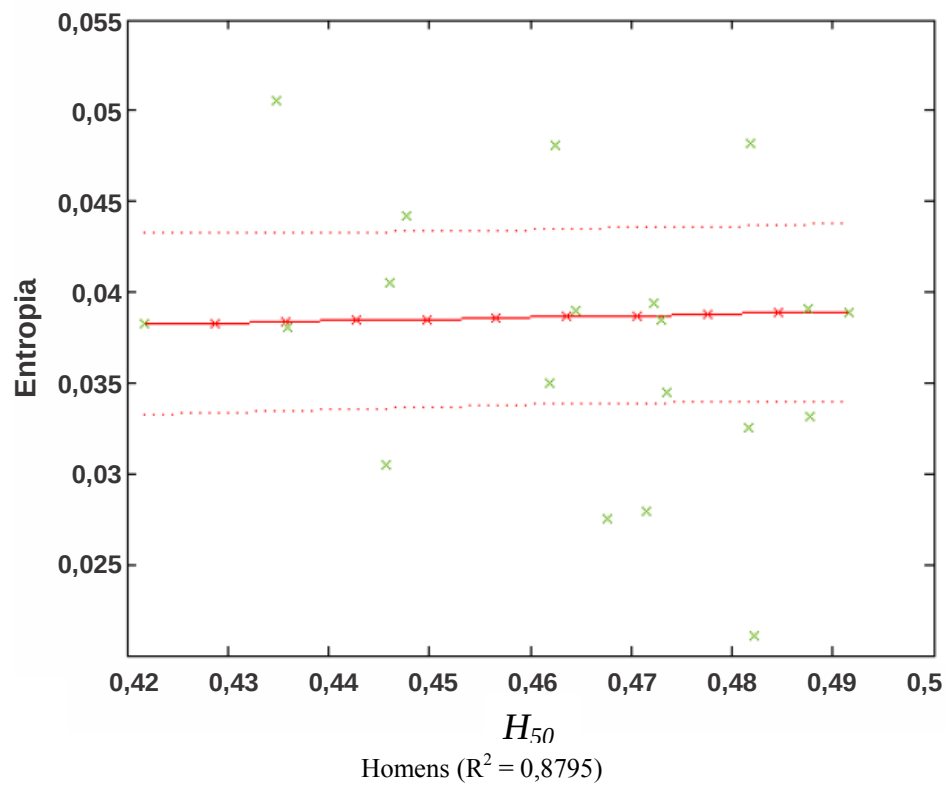


Figura 3.15 - Correlação linear entre entropia aproximada do sinal EMG e o valor da concentração salina em que ocorreu o rompimento de 50% das hemácias (H_{50}), por gênero. No movimento do exterior da espiral para o centro

A Tabela 2 sintetiza os resultados por gênero acima apresentados.

Tabela 2 - Resultado da correlação linear por gênero dos parâmetros significativos

Característica	Homens	Mulheres
A _I x Idade	0,8769	0,8577
dx x Idade	0,7504	0,8219
Entropia x H50 - repouso	0,8618	0,8943
Entropia x H50 - do centro para o exterior	0,8308	0,9270
Entropia x H50 - do exterior para o centro	0,8795	0,8370

3.4 Discussão

Os resultados das correlações lineares feitas entre a idade e os parâmetros A_I e dx (Figuras 3.3 e 3.4) sugerem que além de haver uma redução com o aumento na idade nas concentrações de hemoglobina dos eritrócitos, estes também se tornam mais frágeis com o envelhecimento. Um dos motivos da utilização das hemácias como células supostamente análogas aos neurônios, no que diz respeito à resistência da membrana celular, é que ambas as células não se dividem. Se efetivamente há uma redução nessa resistência com a idade, como apontam alguns estudos (NILSSON-EHLE et al, 2000; CUNHA et al 2007; MILMAN et al, 2008), os resultados podem indicar que há alguma disfunção neuronal no local de origem dos sinais eletromiográficos, ou seja, no sistema nervoso central, o que geraria uma maior variabilidade na frequência e amplitude desses sinais, apontada pela entropia.

Essa hipótese é corroborada pelos resultados nas correlações entre a variabilidade do sinal e a concentração salina em que houve a lise de 50% dos eritrócitos presentes na amostra. Para as medidas do tremor em movimento, a correlação negativa observada entre a entropia do tremor e fragilidade de membrana mostrou que a entropia aparente do tremor diminuiu com o aumento na fragilidade osmótica dos eritrócitos. Em outras palavras, a variabilidade do tremor aumentou com o aumento na resistência de membrana, independentemente da direção em que a espiral foi acompanhada. Já o mesmo não ocorreu com o sinal EMG com o voluntário em repouso, já que a correlação, neste caso, foi positiva. Isso indica que a variabilidade do tremor estático aumentou com o aumento na fragilidade de membrana ou, em outras palavras, que a variabilidade do tremor diminuiu com o aumento na resistência de membrana.

É provável que essa diferença se deva à composição do tremor fisiológico, presente em todos os indivíduos, mesmo os saudáveis. Parte do sinal captado pelo EMG é reflexo das

oscilações mecânicas produzidas pela sístole cardíaca, que se propaga para todo o organismo (MCAULEY; MARSDEN, 2000; ELBLE, 2003). Em repouso, este componente pode ser mais significativo do que o tremor gerado pelos sinais neurogênicos, situação que se inverte quando as células musculares são acionadas para executar um movimento, o que já foi observado por outros trabalhos (RAETHJEN et al, 2000; STURMAN et al, 2005). Esses resultados, entretanto, não são consensuais, pois há diversos estudos que atribuem a origem do tremor fisiológico a diversos outros fatores (MCAULEY; MARSDEN, 2000).

Com relação às demais características calculadas a partir do sinal EMG, ou seja, amplitude (média e máxima), frequência média, RMS e desvio padrão, não foram encontradas correlações significantes em relação à idade ou à resistência da membrana celular. Esses resultados estão de acordo com trabalhos anteriores (RAETHJEN et al, 2000; ELBLE, 2003; STURMAN et al, 2005), que também não encontraram variações significativas com o aumento da idade em situações em que apenas o componente mecânico-reflexo do tremor foi considerado.

Para o acelerômetro, que foi preso à caneta laser durante o experimento, não surpreende que, em repouso, a entropia tenha variado muito pouco com o aumento da fragilidade da membrana (Figura 3.8), já que a sustentação do antebraço reduz a movimentação da caneta e, conseqüentemente, a variabilidade do sinal. Mas no movimento do centro da espiral para o exterior (Figura 3.9), quando o movimento inicia-se com menor amplitude e aumenta para poder atingir as espiras mais externas, os resultados foram semelhantes aos encontrados para o EMG (Figura 3.6). Ou seja, houve uma menor variabilidade na aceleração com o aumento na fragilidade dos eritrócitos, o que reforça os dados anteriores.

Nas análises feitas por gênero, é interessante notar que a redução da concentração da hemoglobina (A_1) com a idade foi mais acentuada entre os homens do que entre as mulheres. De maneira geral, os níveis de hemoglobina nas mulheres adultas é menor do que nos homens, por diversos motivos (KARAZAWA; JAMRA, 1989; BILLET, 1990). Esse é um dos motivos que leva a Medicina a considerar as mulheres como mais sujeitas a anemia provocada por deficiência de ferro (RODRIGUES; JORGE, 2010). Apesar disso, com a idade, entre os homens a quantidade de hemoglobina decresce mais acentuadamente do que entre as mulheres, como foi observado nos estudos feitos por Patel (2008) e Tettamanti et al (2010). Portanto, os resultados deste estudo confirmam os achados já publicados na literatura.

Aparentemente, as mulheres deste estudo apresentaram um aumento na fragilidade dos eritrócitos com o envelhecimento, já que a correlação entre dx e a idade foi significativa

(Figura 3.13). Se esses resultados acompanhassem as análises feitas para o grupo, sem distinção de gênero, seria de esperar que estas apresentassem uma menor variabilidade do sinal EMG em relação à concentração salina responsável pela lise dessas células. Realmente isso ocorreu para um dos sentidos do movimento, do exterior da espiral para o centro. Mas no movimento contrário, a variabilidade do sinal permaneceu praticamente estável para as mulheres, enquanto que, para os homens, houve essa redução proporcional.

É importante notar que as diferenças dos resultados entre homens e mulheres podem ser atribuídas às diferenças hormonais, inclusive no pós-climatério. Como este estudo não se preocupou em investigar a possibilidade de haver problemas endócrinos entre os voluntários, nem questionou se, entre as mulheres mais idosas, havia alguma que estivesse fazendo terapia de reposição hormonal, não é possível fazer qualquer contrária ou favorável a essa hipótese. Uma eventual terapia de reposição hormonal poderia mascarar as eventuais variações endócrinas provocadas pelo climatério.

Outro fator importante que pode ser responsável por esses resultados aparentemente antagônicos é o tamanho da amostra. Quando considerados em conjunto, os resultados apresentam uma maior confiabilidade, já que o número de indivíduos pesquisados é maior. Na separação por gênero, essa amostra cai praticamente pela metade, o que pode interferir no resultado final das correlações.

A maioria dos trabalhos disponíveis na literatura trabalha com pacientes clinicamente diagnosticados com tremor essencial ou Doença de Parkinson, procurando identificar suas características ou correlações entre essas, utilizando instrumentos variados de medição e técnicas de análise estatística avançadas. Uma das contribuições deste trabalho, além de ter-se dedicado ao estudo de uma amostra da população brasileira, que ainda é carente desse tipo de análise, é mostrar que talvez o tremor fisiológico precise de uma avaliação mais atenta antes que se possa trabalhar sobre dados em situações patológicas. Em outras palavras, é possível que haja detalhes na correlação entre o envelhecimento e as variações no tremor fisiológico, considerado normal, que podem influenciar pacientes que clinicamente demonstram ser portadores de outras doenças que também provocam o tremor, causando alterações nas características estudadas nestes casos.

A amostra de voluntários analisada é relativamente pequena e seria interessante ampliá-la para confirmar os resultados obtidos. Entretanto, o protocolo utilizado mostrou-se eficiente para detectar algumas tendências e possibilidades, inclusive da existência, efetiva, de uma relação entre as características do tremor fisiológico e o envelhecimento.

Capítulo 4

Considerações finais e trabalhos futuros

4.1 Considerações finais e limitações do estudo

No que se refere ao tremor, há mais incertezas do que descobertas. E esse é um dos motivos que leva o tema a ser objeto de tantos trabalhos, que buscam encontrar as causas desse distúrbio para tentar, pelo menos, melhorar a qualidade de vida dos pacientes afetados. Quanto mais informação for acumulada sobre o assunto, mais fácil será encontrar a solução, pois a partir das descobertas de uma pesquisa, novos estudos podem ser desenvolvidos.

A quantificação do tremor é um dos caminhos seguidos pelos pesquisadores para ampliar esse conhecimento. Uma vez que a análise de suas características, frequência, amplitude e formas de manifestação, não são suficientes para orientar um diagnóstico seguro, outras variáveis também devem ser consideradas. Como a prática clínica já apontou que o tremor afeta com maior intensidade as pessoas idosas, a busca de marcadores biológicos que estejam associados com esse fator pode criar uma nova linha de investigação sobre o assunto.

O estudo de revisão realizado no início da pesquisa foi de fundamental importância para o entendimento e definição das etapas realizadas neste trabalho. Permitiu identificar quais os métodos mais utilizados para medir e analisar o tremor bem como entender o funcionamento do processo de degeneração celular.

Com a revisão da literatura, foi definido um protocolo para eletromiografia e recrutamento de sujeitos para coletar os sinais dos indivíduos bem como amostras de sangue, permitindo a formação de uma base de dados que foi de fundamental importância na geração dos resultados e das análises realizadas. No decorrer do trabalho, optou-se pela inclusão dos dados da acelerometria, como forma de confirmar ou não os resultados da eletromiografia.

Estudos comparativos entre as diversas características extraídas do sinal eletromiográfico (Amplitude Máxima, Amplitude Média, RMS, Frequência Média, Desvio Padrão, Entropia), mostraram que a entropia é a mais adequada para a quantificação do tremor

em condições estáticas e dinâmicas, pois em todas as análises comparativas, apresentou coeficiente de determinação (R^2) superior a 0,8.

Das amostras sanguíneas, destacamos as variáveis experimentais A_1 , dx e H_{50} como as mais eficientes para detectar a fragilidade osmótica dos eritrócitos fundamentado nos resultados obtidos e discutidos. Por exemplo, as variáveis A_1 e dx quando correlacionadas com os indivíduos de diferentes faixas etárias, confirmaram a existência de relação entre a fragilidade osmótica dos eritrócitos e idade cronológica, pois em ambas as análises (A_1 x idade e dx x idade) obtivemos coeficiente de determinação superior a 0,8.

Já as variáveis H_{50} e Entropia quando correlacionadas, permitiram encontramos resultados que evidenciam correlação entre tremor e a idade cronológica dos indivíduos estudados.

A análise dos resultados por gênero confirmou alguns dados já levantados na literatura, como o declínio mais acentuado da hemoglobina entre os homens idosos do que entre as mulheres de mesma faixa etária. Mas outros resultados mostraram-se inconclusivos, tanto pelo tamanho da amostra como pela ausência de uma investigação prévia de eventuais influências hormonais na saúde dos indivíduos pesquisados. Este, também, é um dos aspectos deste trabalho que precisará ser melhor averiguado em estudos posteriores.

Apesar disso, os resultados deste trabalho mostram que, partindo de dois pressupostos, a origem neurológica do tremor e a redução na resistência da membrana celular com o aumento da idade, existem uma correlação entre eles.

4.2 Sugestões para trabalhos futuros

Partindo-se dos resultados promissores deste estudo, sugere-se que outros trabalhos possam aprofundar essa investigação, a partir de:

- Aumento da amostra de indivíduos: especialmente pela dificuldade de recrutamento de idosos saudáveis para as pesquisas, o aumento no número de indivíduos é de fundamental importância para confirmar os dados obtidos neste estudo. Sugere-se que o mesmo protocolo seja utilizado por outras equipes, inclusive de outras regiões do país, como forma de ampliar o conhecimento para a

população brasileira, considerando-se a grande heterogeneidade de sua formação étnica e genética;

- Inclusão dos níveis hormonais dos indivíduos do sexo feminino, como parâmetro que pode ser utilizado para a análise de eventuais diferenças de resultados nos estudos por gênero;
- Utilização da análise hematológica nos estudos sobre tremor, obtendo-se os indicadores de resistência da membrana do eritrócito como referência para o envelhecimento celular provocado pelo envelhecimento. Já que a idade cronológica pode não ser um parâmetro confiável para as análises relacionadas aos idosos, e como este estudo mostrou haver uma correlação significativa entre a fragilidade dos eritrócitos e a idade cronológica, sugere-se que estes dados sejam utilizados nos estudos sobre tremores patológicos, auxiliando no seu esclarecimento;
- Inclusão de outros instrumentos de medição do tremor fisiológico nas análises comparativas de sua evolução com o envelhecimento, tais como o eletroencefalograma, que possibilita a obtenção dos sinais bioelétricos diretamente do sistema nervoso central;
- Análise multivariada considerando variáveis hematológicas, bioquímicas e eletromiográficas.

Referências bibliográficas

ALHO, C. S. Genética Molecular e Envelhecimento. In: FREITAS, E. V. *et al* (Ed.). **Tratado de Geriatria e Gerontologia**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006, p.23-34.

ANOUTI, A.; KOLLER, W. C. Clinical update: diagnosis and treatment of essential tremor. **Lancet**, n. 369, p. 1152-1154. 1995.

ARKING, R. **The Biology of Aging**. Oxford: Oxford University Press, 2006.

AUBERT, G.; LANSDORP, P. M. Telomeres and Aging. *Physiological Reviews*, v. 88, p. 557-579, 2008.

BARBOSA, E. R.; GONÇALVES, M. R. R. Aspectos Epidemiológicos das Relações entre Tremor Essencial (TE) e Doença de Parkinson (DP). **Revista de Neurociências**, v. 5, n. 2, p. 16-19, 1997.

BARBOSA, E. R.; MELO, L. M. Importância das manifestações não motoras da Doença de Parkinson. **Revista de Neurociências**, v. 15, n. 1, p. 49-59, 2007.

BAUTIER, P. EU25 population rises until 2025, then falls. **Eurostat News**, n. 48, 2005.

BECKMAN, K. B.; AMES, B. N. The Free Radical Theory of Aging Matures. **Physiological Reviews**, v. 78, n. 2, p. 548-581, 1998.

BHAGWATH, G. Tremors in Elderly Persons: Clinical Features and Management. **Hospital Physician**. n. 37, p. 31-39. 2001.

BHIDAYASIRI, R. Differential diagnosis of common tremor syndromes. *Postgraduate Medical Journal*, n. 81, p. 756-762, 2005.

BILLET, H. H. Hemoglobin and Hematocrit. In: WALKER, H. K.; HALL, W. D.; HURST, J. W. **Clinical Methods: The History, Physical, and Laboratory Examinations**. Boston: Butterworths, p. 718-719, 1990.

CANO, M. I. N. A vida nos terminais dos cromossomos. **Ciência Hoje**, n. 39, p. 16-23, 2006.

CORDERO, J. F.; RODRIGUEZ, P. J.; ROMERO, P. J. Differences in intramembrane particle distribution in young and old human erythrocytes. **Cell Biology International** n. 28, p. 423-433, 2004.

CULHANE, K. M. et al. Accelerometers in rehabilitation medicine for older adults. **Age and Ageing**, n. 34, p. 556-560, 2005.

CUNHA, C. C. et al. Effects of glycerol on the thermal dependence of the stability of human erythrocytes. **Journal of Bioenergetics and Biomembranes** n. 39, p. 341-347, 2007.

DENG, H.; LE, W.; JANKOVIC, J. Genetics of essential tremor. **Brain**, n. 130, p. 1456-1464, 2007.

ELBLE, R. J. Characteristics of physiologic tremor in young and elderly adults. **Clinical Neurophysiology**, n. 114, p. 624-635, 2003.

ELBLE, R. J. Gravitational artifact in accelerometric measurements of tremor. **Clinical neurophysiology**, n. 116, p. 1638-1643, 2005.

FEYS, P. et al. Digitised spirometry as an evaluation tool for intention tremor in multiple sclerosis. **Journal of Neuroscience Methods**, v.160, n. 2, p. 309-316, 2007.

FREITAS, M. V. et al. Influence of aqueous crude extracts of medicinal plants on the osmotic stability of human erythrocytes. **Toxicology In Vitro**, n. 22, p. 219-224, 2008.

FREITAS, M. V. et al. Influence of the use of statin on the stability of erythrocyte membranes in multiple sclerosis. **Journal of Membrane Biology**, v. 233, n. 1-3, p. 127-134, 2010.

GOLDSMITH, T. C. **The Evolution of Aging**. Annapolis: Azinet LLC, 2006.

GORBUNOVA, V. et al. Changes in DNA repair during aging. **Nucleic Acids Research**, v. 35, n. 22, p. 7466-7474, 2007.

GREFFARD, S. et al. Motor Score of the Unified Parkinson Disease Rating Scale as a Good Predictor of Lewy Body–Associated Neuronal Loss in the Substantia Nigra. **Archives of Neurology**, n. 63, p. 584-588, 2006.

HABIB-UR-REHMAN. Diagnosis and Management of Tremor. **Archives of Internal Medicine**, n. 160, p. 2438-2444, 2000.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). **Projeção da População do Brasil por sexo e idade - 1980-2050**. Rio de Janeiro: IBGE, 2008.

KALACHE, A.; VERAS, R. P.; RAMOS, L. R. O envelhecimento da população mundial: um desafio novo. **Revista de Saúde Pública**, v. 21, n. 3, p. 200-210, 1987.

KARAZAWA, E. H. I.; JAMRA, M. Parâmetros Hematológicos Normais. **Revista de Saúde Pública**, v. 23, n.1, p. 58-66, 1989.

KIRKWOOD, T. B.; AUSTAD, S. N. Why do we age? **Nature**, n. 408, p. 233-238, 9 nov 2000.

LAMB, R.; HOBART, D. Anatomic and Physiologic Basis for Electromyography. In: SODERBERG, G. L. **Selected Topics in Surface Electromyography for Use in the Occupational Setting: Expert Perspectives**. Washington: US Department of Health and Human Services, 1992.

LE BOURG, É. A mini-review of the evolutionary theories of aging. Is it the time to accept them? **Demographic Research** n. 4, p. 1-28, 2001.

LOUIS, E. D. et al. Diagnostic Criteria for Essential Tremor. **Archives of Neurology**, n. 55, p. 823-828, 1998.

LOUIS, E. D.; FORD, B.; BARNES, L. F. Clinical Subtypes of Essential Tremor. **Archives of Neurology**, n. 57, p. 1194-1198, 2000.

MANDAT, T. et al. Thalamic deep brain stimulation for tremor among multiple sclerosis patients. **Neurologia i Neurochirurgia Polska**, v. 44, n. 6, p. 542-545, 2010.

MANSUR, P. H. G. et al. A Review on Techniques for Tremor Recording and Quantification. **Critical Reviews in Biomedical Engineering** v. 35, n. 5, p. 343-362, 2007.

MANSUR, P. H. G. et al. The approximate entropy of the electromyographic signals of tremor correlates with the osmotic fragility of human erythrocytes. **BioMedical Engineering Online**, p. 9-29, 2010.

MARCHETTI, P. H.; DUARTE, M. **Instrumentação em Eletromiografia**. São Paulo: USP, 2006.

MAROTTA, F. et al. Relationship Between Aging and Susceptibility of Erythrocytes to Oxidative Damage: In View of Nutraceutical Interventions. **Rejuvenation Research**, n. 9, p. 227-230, 2006.

MATTOS, J. P. Diagnóstico diferencial dos tremores. **Arquivos de Neuro-Psiquiatria**, v. 56, n. 2, p. 320-323, 1998.

MCAULEY, J. H.; MARSDEN, C. D. Physiological and pathological tremors and rhythmic central motor control. **Brain**, n. 123, p. 1545-1567, 2000.

MERLETTI, R.; PARKER, P. **Electromyography: Physiology, Engineering, and Noninvasive Applications**. New York: IEEE Press Series on Biomedical., 2004.

MILMAN, N. et al. Hemoglobin concentrations in 358 apparently healthy 80-year-old Danish men and women. Should the reference interval be adjusted for age? **Aging Clinical and Experimental Research**, v. 20, n. 1, p. 8-14, 2008.

NILSSON-EHLE, H. et al. Blood haemoglobin declines in the elderly: implications for reference intervals from age 70 to 88. **European Journal of Haematology**, v. 65, n. 5, p. 297-305, 2000.

OKADA, K. Tri-Axial Piezoresistive Accelerometer. **Technical Digest of the 11th Sensor Symposium**, n. I1-11, p. 245-248, 1992.

OKADA, K. Development of Tri-Axial Accelerometers Using Piezoresistance, Electrostatic Capacitance and Piezoelectric Elements. **Technical Digest of the 13th Sensor Symposium**, p. 169-172, 1995.

ONDO, W. G. et al. Evaluating factors that can influence spirometry ratings in patients with essential tremor. **Parkinsonism and Related Disorders**, v. 11, n. 1, p. 45-48, 2005.

OLIVEIRA, D. J. et al. Síntese de sinais de variabilidade da frequência cardíaca baseada em modelagem não-linear. **Revista Brasileira de Engenharia Biomédica**, v. 22, n. 1, p. 51-62, 2006.

PAHWA, R.; LYONS, K. E. Essential Tremor: Differential Diagnosis and Current Therapy. **The American Journal of Medicine**, v. 115, n. 2, p. 134-142, 2003.

PAPALÉO NETTO, M. O Estudo da Velhice: histórico, definição do campo e termos básicos. In: FREITAS, E. V. et al (Ed.). **Tratado de Geriatria e Gerontologia**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006.

PATEL, K. V. Epidemiology of anemia in older adults. **Seminars in Hematology**, v. 45, n. 4, p. 210-217, 2008.

PENHA-SILVA, N. et al. Effects of glycerol and sorbitol on the thermal dependence of the lysis of human erythrocytes by ethanol. **Bioelectrochemistry**, n. 73, p. 23-29, 2008.

PINCUS, S. M. Approximate entropy as a measure of system complexity. **Proceedings of National Academy of Sciences**, v. 88, p. 2297-2301, 1991.

RABINI, R. A. et al. Reduced susceptibility to peroxidation of erythrocyte plasma membranes from centenarians. **Experimental Gerontology**, n. 37, p. 657-663, 2002.

RAETHJEN, J. et al. Determinants of physiologic tremor in a large normal population. **Clinical Neurophysiology**, n. 111, p. 1825-1837, 2000.

RODRIGUES, L. P.; JORGE, S. R. P. F. Deficiência de ferro na mulher adulta. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v. 32, sup.2, p. 49-52, 2010.

SCHWEITZER, N. B.; ALESSIO, H. M. Genetic expression: oxidative stress, exercise and aging. In: ALESSIO, H. M. e HAGERMAN, A. E. (Ed.). **Oxidative stress, exercise and aging**. London: Imperial College Press, p.145-167, 2006.

SENEVIRATNE, U.; KING, T. E. Tremor Disorders: A Clinical Approach. **SGH Proceedings**, v. 12, n. 2, p. 88-92, 2003.

SHADED, J.; JANKOVIC, J. Exploring the relationship between essential tremor and Parkinson's disease. **Parkinsonism and Related Disorders**, n. 13, p. 67-76, 2007.

STACY, M. A. et al. Assessment of interrater and intrarater reliability of the Fahn-Tolosa-Marin Tremor Rating Scale in essential tremor. **Movement Disorders**, v. 22, n. 6, p. 833-838, 2007.

STURMAN, M. M.; VAILLANCOURT, D. E.; CORCOS, D. M. Effects of aging on the regularity of physiological tremor. **Journal of Neurophysiology**, v. 93, n. 6, p. 3064-3074, 2005.

TALLON-BARRANCO, A. et al. Clinical Features of Essential Tremor Seen in Neurology Practice: a Study of 357 Patients. **Parkinsonism and Related Disorders**, v. 3, n. 4, p. 187-190, 1997.

TETTAMANTI, M. et al. Prevalence, incidence and types of mild anemia in the elderly: the “Health and Anemia” population-based study. **Haematologica**, v. 95, n. 11, p. 1849-1856, 2010.

THANVI, B.; LO, N.; ROBINSON, T. Essential tremor - the most common movement disorder in older people. **Age and Ageing**, n. 35, p. 344-349, 2005.

THE MATHWORKS INCORPORATION, T. M. **Curve Fitting Toolbox User’s Guide**. Natick: The MathWorks Inc, 2009.

TIMIRAS, P. S. **Physiological basis of aging and geriatrics**. 3.ed. London: Informa Health Care, 2003.

TROEN, B. R. The Biology of Aging. **The Mount Sinai Journal of Medicine** v. 70, n. 1, p. 3-22, 2003.

UDDIN, M. K.; RODNITZKY, R. L. Tremor in Children. **Seminars in Pediatric Neurology**, v. 10, n. 1, p. 26-34, 2003.

WEINERT, B. T.; TIMIRAS, P. S. Invited Review: Theories of aging. **Journal of Applied Physiology**, n. 95, p. 1706-1716, 2003.

WENDT, K. J. et al. Columbia University Assessment of Disability in Essential Tremor (CADET): methodological issues in essential tremor research. **Parkinsonism and Related Disorders**, n. 6, p. 17-23, 2000.

WOJTYK, R. I.; GOLDSTEIN, S. Fidelity of protein synthesis does not decline during aging of cultured human fibroblasts. **Journal of Cellular Physiology**, v. 103, n. 2, p. 299-303, 1980.

WYNE, K. T. A comprehensive review of tremor. **Journal of the American Academy of Physician Assistants**, v. 18, n. 12, p. 43-50, 2005.

ZWAAN, B. J. The evolutionary genetics of ageing and longevity. **Heredity**, n. 82, p. 589-597, 1999.

Anexo A

FERRAMENTA CURVE FITTING TOOL¹¹

A ferramenta *Curve Fitting Tool* (CFT) é um software desenvolvido em Matlab pela MathWorks Incorporation para análise de regressão e ajuste de curvas, baseada em bibliotecas de funções lineares e não lineares parametrizadas e técnicas de modelagem não paramétrica, tais como interpolação e *smoothing*. Através de sua interface gráfica é possível inserir ou importar dados, criar curvas de ajuste, plotar gráficos, interpolar, estimar intervalos de confiança, etc. A ferramenta possui recursos para trabalhar com curvas ou superfícies, mas serão exemplificadas aqui apenas as funções referentes às primeiras, que foram utilizadas neste trabalho.

Para que possam ser importados, os dados devem estar armazenados em um arquivo texto (formato ASCII), onde os elementos de cada linha, separados por espaço, representarão uma linha da matriz, na sequência [x y]. A importação é feita através da janela *Data*, mostrada na figura abaixo:

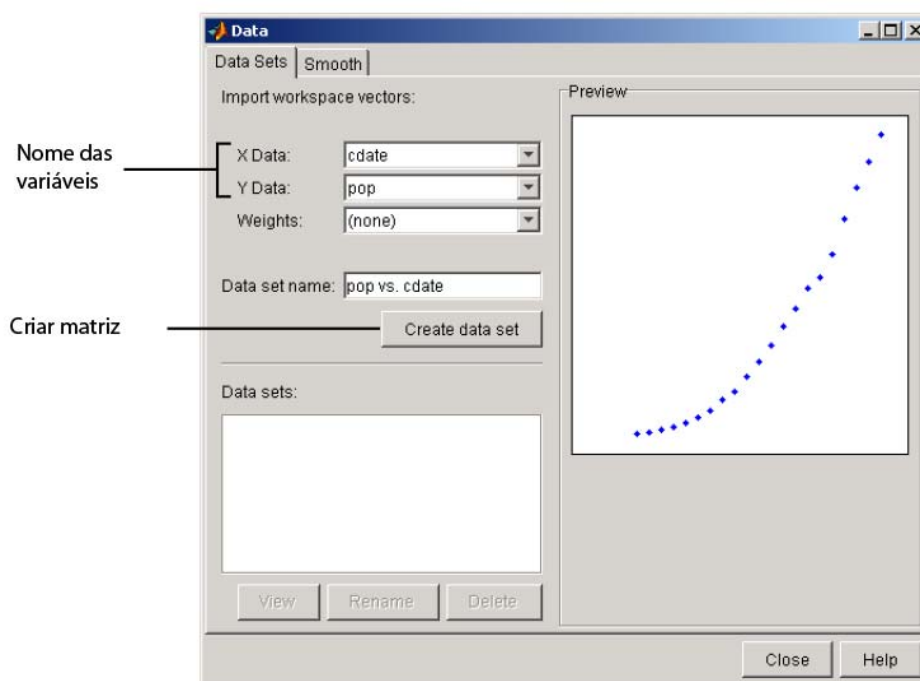


Figura A-1 - Janela *Data* do CFT, mostrando os parâmetros para importação dos dados.

¹¹ As informações deste Anexo foram retiradas do manual *Curve Fitting Toolbox 3 - Users Guide*, da MathWorks Inc., atualizado até setembro de 2010.

Depois da importação, a plotagem dos dados é mostrada na janela da direita (*Preview*).

Para o ajuste da curva e cálculos posteriores, são necessários alguns parâmetros, fornecidos através do painel *Fitting*, mostrado abaixo. Cada conjunto de parâmetros fica armazenado com um nome diferente (*Fit name*) e pode ser acessado a qualquer momento.

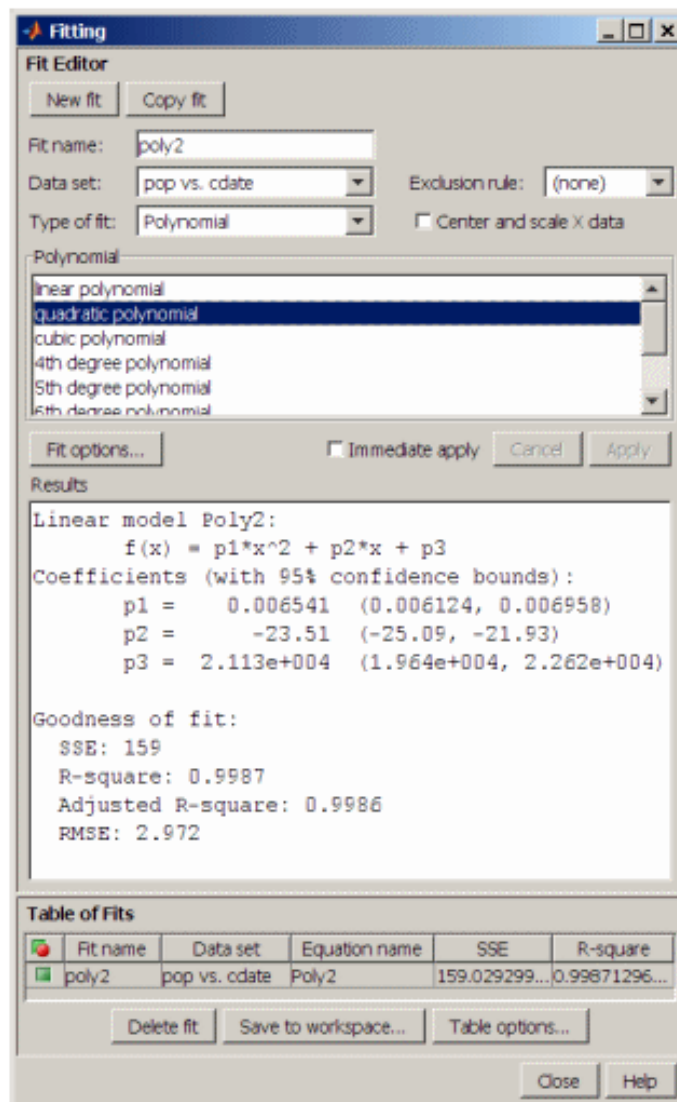


Figura A-2 - Janela *Fitting* do CFT, mostrando os parâmetros para as análises que serão feitas sobre os dados importados.

Depois de inseridos os parâmetros, a janela *Results* mostra o resultado da análise feita para o conjunto de dados, incluindo os coeficientes, a soma dos mínimos quadrados (*SSE*), o coeficiente de determinação (*R-square*) e o coeficiente de determinação ajustado (*Adjusted R-square*) e o erro padrão (*RMSE* - *root means square error*).

No caso deste trabalho, foi utilizado o modelo polinomial linear, obtendo-se como resultado os mesmos dados, como é mostrado no exemplo abaixo, para o cálculo da correlação entre A_1 e idade dos voluntários do sexo masculino:

Dados: A_1 e idade dos voluntários do sexo masculino

Resultados do CFT:

Linear model Poly1:

$$f(x) = p1 * x + p2$$

Coefficients (with 95% confidence bounds):

$$p1 = -0.003984 \text{ } (-0.004681, -0.003287)$$

$$p2 = 1.04 \text{ } (1.005, 1.076)$$

Goodness of fit:

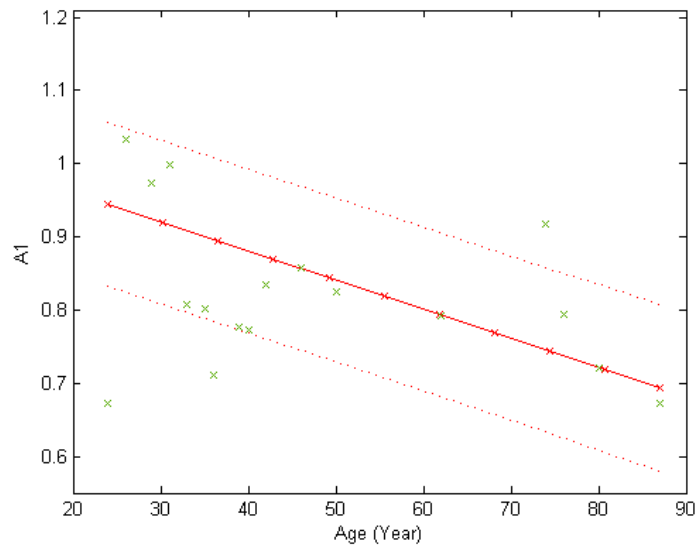
SSE: 0.1948

R-square: 0.8769

Adjusted R-square: 0.875

RMSE: 0.05517

Gráfico gerado:



Quando a janela *Fitting* é fechada, o CFT automaticamente gera o gráfico utilizando-se os novos parâmetros (Figura A-3).

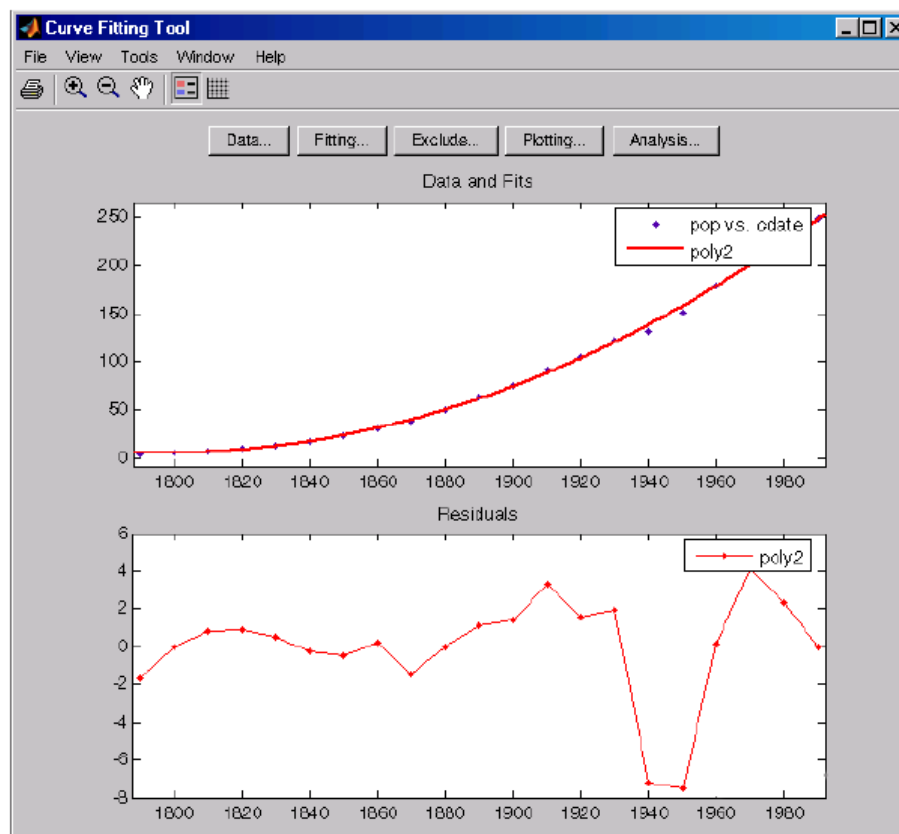


Figura A-3 - Gráfico gerado pelo CFT. Na parte superior, aparece a curva calculada para os dados fornecidos nas etapas anteriores. Na janela inferior aparecem os resíduos, que podem ajudar na avaliação da qualidade da regressão.

Neste trabalho, antes do cálculo da curva, os dados foram submetidos ao filtro Savitzky-Golay, com intervalo de janela igual a 5 (*span*) e polinômio de grau 2 (*degree*), conforme é mostrado na Figura A-4.

O filtro Savitzky-Golay pode ser considerado como um filtro de média móvel genérico. Seu princípio segue os seguintes passos:

- 1) Definida a origem, informa-se a largura do intervalo (*span*), ou seja, o número de valores anteriores e posteriores que serão considerados;
- 2) A partir dessa largura, que deve ser um valor inteiro e ímpar, o ponto central é retirado da amostra;
- 3) Com os pontos restantes é feito o ajuste de um polinômio de grau previamente informado, utilizando-se o método dos mínimos quadrados;
- 4) Com esse polinômio, o ponto central é estimado;
- 5) O cálculo desloca-se para o ponto seguinte da série de origem, repetindo-se o processo.

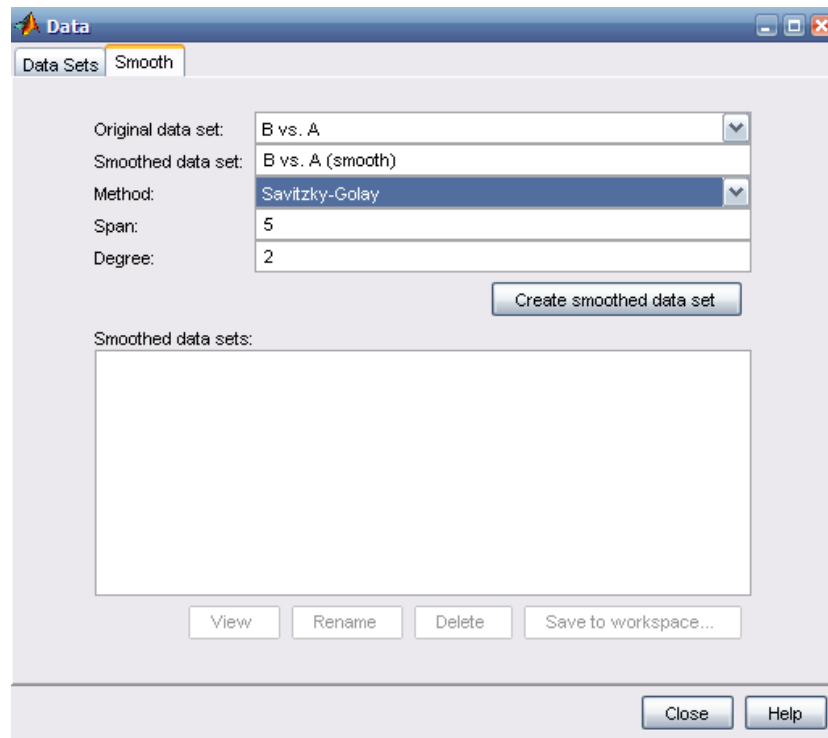


Figura A-4 - Parâmetros de filtragem informados no CFT antes da plotagem da curva.

Esse método é muito utilizado para suavização de dados de frequência, preservando a qualidade do sinal original.

Em geral, o filtro de Savitzky-Golay requer que o intervalo entre os valores seja uniforme. No caso do algoritmo utilizado pelo CFT, entretanto, não existe essa exigência, o que elimina a necessidade de uma filtragem anterior para a normalização dos intervalos.

Os resultados produzidos pela CFT podem ser armazenados ou impressos para utilização posterior.