

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS NATURAIS E EXATAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS:
BIOQUÍMICA TOXICOLÓGICA-PPGBTOX

Tális de Oliveira Silva

**IDENTIFICAÇÃO DE MARCADORES BIOQUÍMICOS E GENÉTICOS
QUE INFLUENCIAM A SOBREVIVÊNCIA DE IDOSOS RIBEIRINHOS
DO AMAZONAS**

Santa Maria, RS

2017

Tális de Oliveira Silva

**IDENTIFICAÇÃO DE MARCADORES BIOQUÍMICOS E GENÉTICOS QUE
INFLUENCIAM A SOBREVIVÊNCIA DE IDOSOS RIBEIRINHOS DO
AMAZONAS**

Tese apresentada ao Curso de
Doutorado do Programa de Pós-
Graduação em Ciências Biológicas,
Área de concentração em Bioquímica
Toxicológica, da Universidade Federal
de Santa Maria (UFSM/RS), como
requisito parcial para obtenção do grau
de **Doutor em Ciências Biológicas:
Bioquímica Toxicológica**

Aprovada em 15 de março de 2017:



Ivana Beatrice Mânica da Cruz, Dr^a. (UFSM)(Presidente/Orientadora)



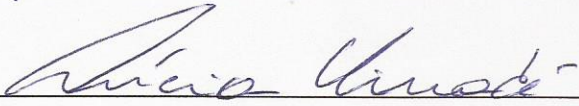
Maribel Rubin Dr^a (UFSM)



Vânia Lucia Loro, Dr^a. (UFSM)



Jacqueline da Costa Escobar Piccoli, Dr^a. (UNIPAMPA/URIGUAIANA)



Lúcia do Canto Vinadé, Dr^a (UNIPAMPA/ SÃO GABRIEL)

Santa Maria, RS, Brasil
2017

Ficha catalográfica elaborada através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Central da UFSM, com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

OLIVEIRA SILVA, TALIS
IDENTIFICAÇÃO DE MARCADORES BIOQUÍMICOS E GENÉTICOS
QUE INFLUENCIAM A SOBREVIVÊNCIA DE IDOSOS RIBEIRINHOS DO
AMAZONAS / TALIS OLIVEIRA SILVA.- 2017.
110 p.; 30 cm

Orientadora: IVANA BEATRICE MANICA DA CRUZ
Tese (doutorado) - Universidade Federal de Santa
Maria, Centro de Ciências Naturais e Exatas, Programa de
Pós-Graduação em Bioquímica Toxicológica, RS, 2017

1. MARCADORES BIOQUIMICOS 2. MARCADORES GENÉTICOS 3.
LONGEVIDADE 4. 5ht2A 5. AOPP I. MANICA DA CRUZ, IVANA
BEATRICE II. Titulo.

2017

Todos os direitos autorais reservados a Tális de Oliveira Silva. A reprodução de partes ou todo deste trabalho só poderá ser feita mediante citação da fonte.

Email: talis.biologia@gmail.com

Tális de Oliveira Silva

**IDENTIFICAÇÃO DE MARCADORES BIOQUÍMICOS E GENÉTICOS QUE
INFLUENCIAM A SOBREVIVÊNCIA DE IDOSOS RIBEIRINHOS DO AMAZONAS**

Tese apresentada ao Curso de Doutorado do Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas, Área de concentração em Bioquímica Toxicológica, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM/RS), como requisito parcial para obtenção do grau de **Doutor em Ciências Biológicas: Bioquímica Toxicológica**

Aprovada em 15 de março de 2017:

Ivana Beatrice Mânica da Cruz, Dr^a. (UFSM)(Presidente/Orientadora)

Maribel Rubin Dr^a (UFSM)

Vânia Lucia Loro, Dr^a. (UFSM)

Jacqueline da Costa Escobar Piccoli, Dr^a. (UINPAMPA/URIGUAIANA)

Lúcia do Canto Vinadé, Dr^a (UNIPAMPA/ SÃO GABRIEL)

**Santa Maria, RS, Brasil
2017**

DEDICATÓRIA

Aos meus pais, por todo apoio, pelos valores ensinados e sempre me apontaram o caminho da honestidade e persistência.

Ao meu grande amor, Bruno Cassol, pelo apoio incondicional em todos os momentos, principalmente nos de incerteza, muito comuns para quem tenta trilhar novos caminhos.

Sem vocês esta conquista não seria possível.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a minha orientadora, Ivana, por ter me dado esta oportunidade, aberto as portas do seu laboratório. A toda a equipe do laboratório Biogenômica pelo carinho e amizade que recebi ao longo desta jornada, em especial ao Raul, Maria Fernanda, Thais e Micheli por todos os momentos de amizade, dedicação e companheirismo.

Agradeço também a equipe do Laboratório de Biologia Molecular da UNOESC, Jeferson, Paola, Elaine, Thaise, Cíntia e Prof Alexis pelo auxílio na realização deste trabalho e também por todo suporte científico.

O presente trabalho foi realizado com o apoio do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico- CNPq-Brasil e FAPERGS. Agradeço a estas instituições pelo apoio financeiro.

O Mestre na arte da vida faz pouca distinção entre o seu trabalho e o seu lazer, entre a sua mente e o seu corpo, entre a sua educação e a sua recreação, entre o seu amor e a sua religião. Ele dificilmente sabe distinguir um corpo do outro. Ele simplesmente persegue sua visão de excelência em tudo que faz, deixando para os outros a decisão de saber se está trabalhando ou se divertindo. Ele acha que está sempre fazendo as duas coisas simultaneamente.

Texto budista

RESUMO

IDENTIFICAÇÃO DE MARCADORES BIOQUÍMICOS E GENÉTICOS QUE INFLUENCIAM A SOBREVIVÊNCIA DE IDOSOS RIBEIRINHOS DO AMAZONAS

Autor: Tális de Oliveira Silva

Orientadora: Prof^ª. Dra. Ivana Beatrice Mânica da Cruz

Palavras-chave: Longevidade, marcadores oxidativos, AOPP, marcadores genéticos, T201C

O crescente número de idosos aumenta a preocupação com os mecanismos associados aos processos ligados a longevidade, gerando a necessidade de identificar marcadores que estimem os riscos de doenças crônico-degenerativas ou até mesmo a morte. O objetivo deste trabalho foi analisar a associação dos Produtos Avançados de Oxidação Proteica (AOPP-Advanced Oxidation Protein Products) e do polimorfismo serotoninérgico T102C do gene HTR2a com indicadores de longevidade e saúde de idosos ribeirinhos da amazônia em Maués-AM após 5 anos de acompanhamento. Neste estudo, os dados foram obtidos através da aplicação de uma entrevista ao idoso Ribeirinho da Amazônia para obter os seguintes dados: variáveis demográficas (escolaridade, renda, estado civil, ocupação), estilo de vida (tabagismo), fatores de risco de doenças cardiovasculares (hipertensão, diabetes tipo 2, obesidade, dislipidemia e síndrome metabólica), história de doenças crônicas prévias, hospitalização no último ano, uso e quantidade de medicação diária. Realizou-se a coleta de dados antropométricos e variáveis funcionais e de equilíbrio, detalhes da metodologia utilizada são descritos em Costa Krewer et al. e Maia-Ribeiro et al. A idade, sexo, condições socioeconômicas e culturais, morbidades crônicas, polifarmácia também foram testadas como possíveis fatores intervenientes. A coleta amostral foi realizada e estas foram transportadas para o Laboratório de Biogenômica (UFMS) e Laboratório de Genética e Biologia Molecular (UNOESC) onde realizou-se a análise dos marcadores bioquímicos e genotipagem do polimorfismo serotoninérgico T102C. As análises estatísticas foram realizadas utilizando SPSS / PC (SPSS, Inc., IL). O tamanho amostral para a determinação dos níveis de AOPP foram 540 indivíduos (84,78%) e para o polimorfismo T102 5-HT2A foram 471 indivíduos. A genotipagem do polimorfismo genético T102C revelou três genótipos distintos: CC (216, 126 pb), CT (342, 216, 126 pb), TT (342 pb). As frequências genotípicas do polimorfismo T102C-SNP foram 14,0% de TT, 28,0% de CC e 58,0% de CT, 209 homens (44,4%) e 262 mulheres (55,6%) com uma média de $72,3 \pm 7,8$ anos de idade. Para a avaliação da influência da sobrevivência ligada ao polimorfismo serotoninérgico T102C utilizou-se a curva de sobrevida de Kaplan-Meier, sendo que os índices foram significativamente baixos ($p = 0,005$) em pacientes TT (27,3%) e CC (21,2%) quando comparados com heterozigotos CT (12, 5%), revelando que o genótipo CT apresentou os maiores índices de longevidade quando comparado com os genótipos TT e CC. A análise de regressão de Cox mostrou que a associação entre os portadores do genótipo CT e sobrevida foi independente de outras variáveis de saúde. Para o marcador bioquímico AOPP, 13,7% dos idosos morreram e 86,3% sobreviveram. Os níveis de AOPP mostraram aumento ($46,27 \pm 40,6$ mmol / L) nos idosos ($36,79 \pm 20,84$ mmol / L) ($p = 0,002$), sugerindo que idosos com níveis mais altos de AOPP (AOPP > 60 mmol / L) apresentam um maior risco de morte (risco relativo = 2,122 (1,243-3,937), $p = 0,007$). A análise de correlação de Pearson mostrou que a associação entre os altos níveis de AOPP e morte foi independente de outras variáveis de saúde. Os resultados aqui apresentados indicam que o marcador bioquímico AOPP e o marcador genético T102C podem ser capazes de avaliar os riscos de mortalidade relacionados à longevidade independente de outros fatores intervenientes.

ABSTRACT

IDENTIFICATION OF BIOCHEMICAL AND GENETIC MARKERS ON SURVIVAL OF AMAZON RIPARIAN ELDERLY

Author: Tális de Oliveira Silva

Advisor: Prof^a Dr^a Ivana Beatrice Mânica da Cruz

Key-words: Longevity, oxidative markers, AOPP, genetic markers, T201C

The growing number of elderly people increases the concern about the mechanisms associated with longevity processes, generating the need to identify markers that estimate the risks of chronic-degenerative diseases or even death. The goal of this study was to analyze the association between the advanced oxidation protein products (AOPP) and the genetic polymorphism T102C-5HT2A with the longevity and health indicators of elderly free-living population in Maués city after 5 years of follow-up. In this study, the data was collected through an interview to the elderly Riparian from Amazonia, which are: demographic variables (education, income, marital status, occupation), lifestyle (smoking), risk factors (hypertension, type 2 diabetes, obesity, dyslipidemia and metabolic syndrome, history of previous chronic diseases, including morbidities by cardiovascular disease, hospitalization in the last year, use and amount of daily medication. The collections of anthropometric data, functional variables and of balance were collected. The methodology details used are described in Costa Krewer et al. And Maia-Ribeiro et al. Age, gender, socioeconomic and cultural conditions, chronic morbidity, polypharmacy and previous morbidities were tested as possible confounding factors. The collection of blood samples was transported to the Laboratory of Biogenomics (UFMS) and Laboratory of Genetics and Molecular Biology (UNOESC). Statistical analyzes were performed using SPSS / PC (SPSS, Inc., IL). The sample size for determination of AOPP levels was 540 individuals (84.78%) and for the T102 5-HT2A polymorphism were 471 individuals. The genotyping of T102C polymorphism revealed three distinct genotypes: CC (216, 126 bp), CT (342, 216, 126 pB), TT (342 bp). The genotype frequencies of the T102C-SNP polymorphism were 14.0% of TT, 28.0% of CC and 58.0% of CT, 209 men (44.4%) and 262 women (55.6%) with a mean Of 72.3 ± 7.8 years of age. Kaplan-Meier survival curve was used to evaluate the influence of survival on the T102 5-HT2A polymorphism. The indices were significantly low ($p = 0.005$) in TT (27.3%) and CC (21.2%) when compared to heterozygous CT (12.5%). Cox regression analysis showed that the association between CT genotype and survival of the elderly was independent of other health variables. For the AOPP biochemical marker, 13.7% of the elderly died and 86.3% survived. AOPP levels increased (46.27 ± 40.6 mmol / L) in the elderly (36.79 ± 20.84 mmol / L) ($p = 0.002$), suggesting that elderly patients with higher AOPP levels (AOPP > 60 mmol / L) had a higher risk of death (relative risk = 2.122 (1.243-3.937), $p = 0.007$). Pearson's correlation analysis showed that the association between high AOPP-H and death was independent of other health variables. The results indicate that these markers: AOPP and T02C, may be able to assess mortality risks related to longevity independent of other intervening factors.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Taxas de mortalidade por DCNT por região em 1996 e 2007	30
Figura 2 - Principais classes de genes envolvidos no processo de envelhecimento.....	34
Figura 3 - Síntese e degradação da serotonina.	40

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Dados geográficos e demográficos de Maués/AM-Brasil.....	26
Tabela 2- Receptores de serotonina e mecanismos	44
Tabela 3- Principais receptores serotoninérgicos.....	46
Tabela 4- Principais desordens associadas T102C	47

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

5HT- 5-hidroxitriptamina ou Serotonina

5-HTP- 5-hidroxitriptofano

AOPP- produtos avançados de oxidação proteica

BH4- tetrahidrobiopterina

cAMP - AMP cíclico

COMT-catechl-3-metil transferase-like

DAG – diacilglicerol

DCNT- Doenças crônicas não transmissíveis

HTR2a- gene codificador da molécula de Serotonina

IMC- Índice Massa Corporal

IP3 - 1,4,5-trifosfato de inositol

MAO- Monoamina Oxidase

MAO-monomina oxidase

MPOs- enzimas mieloperoxidases

OMS- Organização Mundial da Saúde

PD- Pressão Diástolica

PS-Pressão Sistólica

SERT- transportador da serotonina

T102C/rs 6313- Polimorfismo Serotonérgico, mutação silenciosa, cromossomo 13, na posição 34° da sequência de Aa, na posição 102 do início do gene.

TPH- triptofano hidroxilase

TRPL- triptofano livre

VMAT- vesicular monoamine transporter- transportador de monoaminas vesicular

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	25
1.1 O PROJETO IDOSO DA FLORESTA.....	25
1.2 ENVELHECIMENTO: ASPECTOS GERAIS E DADOS EPIDEMIOLÓGICOS..	27
1.2.2 CARACTERÍSTICAS GERAIS DA BIOLOGIA DO ENVELHECIMENTO	29
1.3 TEORIAS DO ENVELHECIMENTO.....	32
1.4 MARCADORES ASSOCIADOS AO ENVELHECIMENTO E A LONGEVIDADE HUMANA.....	33
1.4.1 PRODUTOS AVANÇADOS DE OXIDAÇÃO DE PROTEÍNA (AOPP) COMO MARCADOR GERONTOLÓGICO.....	35
1.4.2 SEROTONINA: GENE PLEIOTRÓPICO COMO MARCADOR GERONTOLÓGICO.....	37
1.4.2.1 SEROTONINA (5-HIDROXITRIPTAMINA OU 5HT): CARACTERIZAÇÃO E MECANISMOS DE AÇÃO	38
1.4.2.2 CARACTERIZAÇÃO DO POLIMORFISMO GENÉTICO T102 C DO GENE HTR2A (5HT2A).....	45
2 OBJETIVO	49
2.1 OBJETIVO GERAL.....	49
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	49
3. METODOLOGIA/ RESULTADOS.....	50
ARTIGO 1.....	51
ARTIGO 2.....	58
4 DISCUSSÃO	83
5 CONCLUSÃO.....	91
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	92
ANEXO A- CARTA ACEITE ARTIGO 2.....	110

1 INTRODUÇÃO

1.1 O PROJETO IDOSO DA FLORESTA

Estudos sobre marcadores associados ao envelhecimento e longevidade são bastante difíceis já que seres humanos apresentam uma grande diversidade sócio-ambiental e genética que pode interferir a aceleração e desaceleração de disfunções metabólicas e fisiológicas associadas a velhice. Um dos fatores que podem interferir diretamente nos resultados obtidos diz respeito ao acesso aos serviços de saúde de uma dada população. Esta condição faz com que muitas vezes não seja possível investigar o real papel de alguns fatores que influenciam o envelhecimento e a longevidade. Por este motivo, a partir de 2009 foi estabelecido em parceria entre a Universidade Federal de Santa Maria e a Universidade do Estado do Amazonas (UEA) o Projeto idoso da Floresta (UFSM, No 23081.015838/2011-10), o qual teve como objetivo investigar fatores genético-ambientais que influenciam o envelhecimento, disfunções, doenças e tempo de vida de idosos ribeirinhos que vivem no interior do Amazonas (RIBEIRO et al., 2013).

O projeto Idos na Floresta foi implantado em 2007 no município de Manaus (tabela 1). Os estudos foram implementados no Município de Maués e têm sido tema de estudos prévios, (MAIA-RIBEIRO et al., 2013, COSTA-KREWER et al, 2011).

Maia-Ribeiro et al., (2013) realizou uma investigação nesta mesma localidade a respeito do equilíbrio e saúde desses idosos com e sem história de quedas. Os resultados sugerem que as quedas que esses idosos sofreram foram fortemente associadas a acidentes devido as condições ambientais relacionadas com a vida diária. Estes resultados mostraram que, em geral, o idoso investigado apresentou uma saúde satisfatória e condições funcionais normais no momento da inclusão no estudo (julho de 2009) (MAIA-RIBEIRO et al., 2013).

Maués possui uma população com 45284 habitantes, os quais 2939 (6.4%) são idosos, sendo as amostras analisadas neste estudo representam 21,96% da população idosa. O município encontra-se localizado no meio geográfico da região amazônica; a qual foi fundada em 1798 por Portugueses e tornou-se município em 1896. A região proeminente de Maués está localizada na margem direita do rio Maués-Açu. A respeito dos participantes deste estudo, cerca de 50% destes voluntários vivem em comunidades costeiras, distantes, localizadas entre os rios e afluentes da floresta amazônica. Este estudo foi realizado em uma população de idosos,

considerando-se que estas pessoas idosas tendem a ter um padrão alimentar estável e são menos suscetíveis às mudanças decorrentes do aumento do uso global de alimentos nutritivos, em comparação com adultos jovens. Além disso, estudos epidemiológicos demonstraram que os parâmetros aqui investigados são mais prevalentes em pessoas idosas (COSTA-KREWER et al, 2011).

Tabela 1 - Dados geográficos e demográficos de Maués/AM-Brasil

Indicadores Demográficos de Maués/Brasil	
Localização Geográfica	Latitude: 3°38'36.1"S Longitude: 57°71'86.1"W
Área	39988 km ²
População (2009)	45284
Acesso Transporte	Transporte por água- bote e transporte aéreo
Distância de Manaus	356 km
Distribuição da População (2009)	Região Urbana Ribeirinha: 21094 Região Rural Ribeirinha: 24190 Total: 45284 População Idosa: 2939 (6.4%)
Distribuição geográfica da população Ribeirinha	175 comunidades distribuídas em muitos deltas de rios.
Densidade demográfica	1 hab/km ²
Expectativa de vida	68.3 anos

Um estudo realizado por Ribeiro e colaboradores, com esta mesma população, verificou que em geral, os perfis socioeconômico e cultural, da prevalência de morbidades e dependência tenderam a ser similares a dados descritos em outros estudos brasileiros e aponta para a necessidade de análises complementares que estratifiquem a amostra por sexo, idade e perfil socioeconômico e cultural precisam ser conduzidas (MAIA-RIBEIRO et al., 2013)

Por esta razão, uma segunda fase do estudo foi implementada para procurar potenciais fatores bioquímicos e genéticos ambientais que podem afetar a expectativa de vida desses idosos. Como o estudo foi implantado em 2009 com coleta de material biológico (sangue) tornou-se possível o desenvolvimento de investigações longitudinais que busquem identificar potenciais marcadores bioquímicos e genéticos associados a sobrevivência dos idosos nos cinco anos subsequentes de acompanhamento dos mesmos. Estudos prospectivos longitudinais são grande relevância já que permitem a estimativa do risco relativo associado a alterações de marcadores bioquímicos e genéticos. Assim, o presente estudo focalizou duas questões principais: níveis alterados de AOPP e variações no polimorfismo T102C do gene 5-HT2A influenciaram a sobrevivência dos idosos investigados e incluídos no Projeto Idoso da Floresta.

1.2 ENVELHECIMENTO: ASPECTOS GERAIS E DADOS EPIDEMIOLÓGICOS

Nas mais diversas épocas e sociedades, o homem tem buscado incessantemente a longevidade ou maneiras de prolongar a vida. Porém esta prorrogação de nada serve se não estiver associado a qualidade de vida aos anos adicionais tornando-os, desta forma, uma real conquista. O envelhecimento populacional, até há pouco tempo atrás considerado um fenômeno raro, hoje, faz parte da realidade da maioria das sociedades desenvolvidas e em desenvolvimento (CAMARANO et al.,1999; VERAS, 2009)

Projeções epidemiológicas estimam que o contingente idoso até 2020 seja de 30,9 milhões de pessoas, no entanto esta taxa é oito vezes maior do que a taxa de crescimento da população jovem (CAMARANO et al.,1999). Ainda de acordo com estes estudos, se este ritmo continuar, em 2030, a população de idosos irá ultrapassar a população jovem entre 15 e 29 anos.

O aumento da população idosa demanda políticas públicas específicas para acolher as necessidades dessa faixa da população. Entretanto observa-se uma carência geral de recursos e

programas específicos para atender a pessoa idosa. A outra faceta desta realidade são as patologias que acometem esta faixa da população, tornando restrita sua autonomia dentro e fora de casa, necessitando de cuidados adicionais (VERAS, 2009).

O estabelecimento da idade a qual o indivíduo é considerado idoso é determinada pela Organização Mundial da Saúde (OMS), sendo estabelecida conforme o nível sócio-econômico de cada país. Baseado nesse aspecto, em países em desenvolvimento, os idosos são indivíduos com 60 ou mais anos de idade. Entretanto em países desenvolvidos, levando-se em consideração a classificação da OMS, esta idade se estende para 65 anos (OMS, 2015)

Em países desenvolvidos, entre 40 até 65 anos, o indivíduo é considerado um adulto médio ou de meia idade. Em países em desenvolvimento como é o caso do Brasil, a ‘meia idade vai até os 60 anos’. Dos 65 até 75 anos, os indivíduos são considerados com idosos jovens (velhice precoce), e a partir dos 75 anos em diante, a chamada velhice tardia também composta por idosos longevos (PALÁCIOS, 2004).

No Brasil observa-se um grande crescimento da população idosa, sendo que esta atualmente represente cerca de 15 milhões de idosos (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2006). Mundialmente estima-se que para o ano de 2050 existirão cerca de dois bilhões de pessoas com sessenta anos ou mais, e que a maioria delas estará vivendo em países em desenvolvimento.

Estas estimativas tornam-se preocupantes, levando-se em consideração que o aumento da população idosa exige mudanças nas diversas esferas que estruturam a sociedade como: educação, saúde, política, economia e outros. (INAGAKI et al, 2008)

Dessa forma, torna-se imprescindível investimentos em pesquisa, vigilância, prevenção e promoção da saúde sobre os aspectos ligados ao processo de envelhecimento, desde seu impacto socioeconômico até as doenças associadas ao mesmo.

1.2.2 CARACTERÍSTICAS GERAIS DA BIOLOGIA DO ENVELHECIMENTO

De acordo com a Organização Pan-Americana de Saúde (OPAS), o envelhecimento pode ser definido como: “um processo sequencial, individual, multifatorial, acumulativo, irreversível, universal, não patológico, de deterioração de um organismo maduro, próprio a todos os membros de uma espécie, de maneira que o tempo o torne menos capaz de fazer frente ao estresse do meio-ambiente e, portanto, aumente sua possibilidade de morte” (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2006).

Biologicamente pode ser considerado como uma involução morfofuncional, sendo que diversas destas alterações ocorrem primeiramente a nível celular-molecular (MORAES et al., 2010). O processo de envelhecimento pode levar a diminuição da capacidade funcional e sobrecarga dos mecanismos de controle homeostático. Neurologicamente, o envelhecimento cerebral considerado como normal evidencia-se a partir da segunda década de vida, apresentando um declínio ponderal discreto, lento e progressivo. Associa-se a estas alterações, alterações microscópicas neuronais e mudanças nos sistemas de neurotransmissão, sendo os sistemas dopaminérgicos e colinérgicos os que apresentam maiores modificações (DINIZ et al., 2013; MORAES et al., 2010).

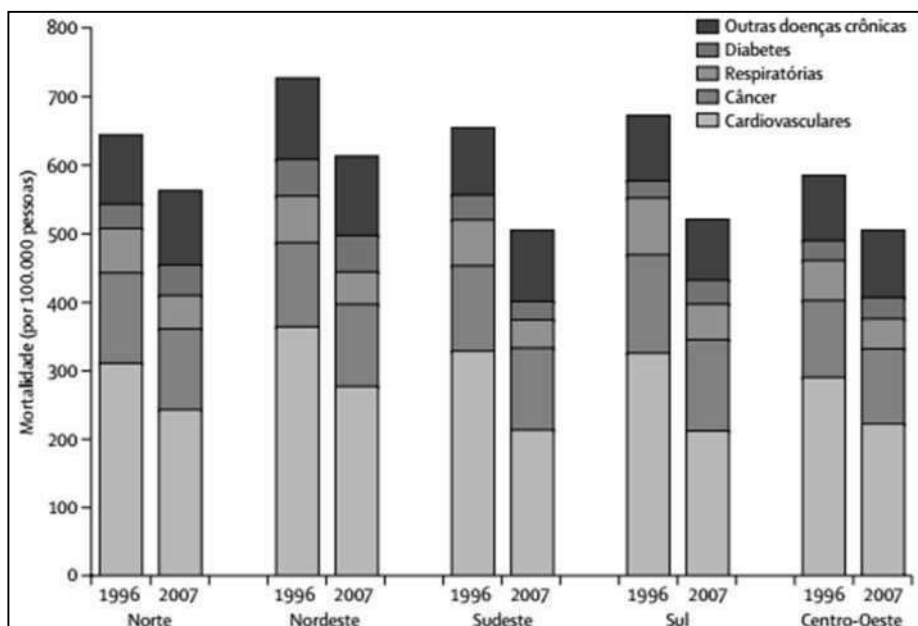
O envelhecimento biológico caracteriza-se por modificações profundas no organismo, sendo que, as principais alterações fisiológicas são de ordem física, metabólica, bioquímica, fisiológica- alterações da composição corporal, sistema digestório, sistema nervoso, renal, perda de audição, alterações no apetite, alterações de ordem psicossocial entre outras. Estas modificações levam a um aumento na suscetibilidade de doenças crônicas não transmissíveis (DCNT) como a artrite, hipertensão, doenças cardiovasculares, depressão, Diabetes mellitus tipo 2 entre outras (BURCH et al., 2014; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2006; ACHUTTI e AZAMBUJA, 2004; RAMOS, 2003; FRIED, 2000).

De acordo com o Ministério da saúde, as Doenças Crônicas Não Transmissíveis (DCNT) são doenças multifatoriais que se desenvolvem no decorrer da vida do indivíduo, possuindo longa duração. Atualmente, elas são consideradas um sério problema de saúde pública, e já eram responsáveis por 63% das mortes no mundo (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2006).

Dentro das principais DCNT, os transtornos neuropsiquiátricos e cardiovasculares são responsáveis pela maior parcela de contribuição, 41% (SCHMITD et al., 2011). Em 2007, cerca de 72% das mortes no Brasil foram atribuídas às DCNT (doenças cardiovasculares, doenças respiratórias crônicas, diabetes, câncer e outras, inclusive doenças renais), 10% às doenças infecciosas e parasitárias e 5% aos distúrbios de saúde materno-infantis (Figura 1). Essa distribuição contrasta com a de 1930, quando as doenças infecciosas respondiam por 46% das mortes nas capitais brasileiras. (SILVA-JUNIOR 2009).

Devido a gravidade e a longa duração das DCNT, estas demandam uma grande quantidade de recursos relacionados a procedimentos e serviços de saúde. Estes gastos são denominados Custos Diretos, e podem ser contabilizados de acordo com dados e estimativas das internações e atendimentos ambulatoriais. Cada ano que passa, mais 200 mil pessoas maiores de 60 anos são acrescidas à população brasileira, tornado ainda maior a demanda para o sistema de saúde quanto a prevenção e tratamento das DCNT no país (MALTA et al, 2006).

Figura 1 - Taxas de mortalidade por DCNT por região em 1996 e 2007



(SCHMITD et al.,2011).

Torna-se evidente que durante o processo de envelhecimento, o organismo sofre modificações notáveis e irreversíveis, as quais acabam levando-o inevitavelmente a morte e, dessa forma, diversas Teorias do Envelhecimento são elaboradas para tentar elucidar este processo, tanto sob o ponto de vista fisiológico, quanto celular.

1.3 TEORIAS DO ENVELHECIMENTO

Por ser altamente complexo, existem várias teorias que tentam explicar o processo de envelhecimento, entre estas se destacam as Teorias Estocásticas como: Teoria da mutação somática (MORLEY, 1982), a Teoria das proteínas alteradas (RATTAN, 1996), a Teoria auto-imune (MEREDITH e WALFORD, 1979) e Teorias relacionados a danos como as mutações e outros danos moleculares como a Teoria dos Radicais Livres (HARMAN, 1956, 1981).

Talvez a teoria mais testada e que apresenta aspectos que realmente parecem explicar este complexo processo é a Teoria Mitocôndrial dos Radicais Livres (*Mitochondrial Free Radical Theory of Aging*) proposta por Harman (HARMAN, 1956, 1981; LIU et al., 2014). Este autor propôs que o processo do envelhecimento poderia ser desencadeado principalmente pela ação dos radicais livres, sendo apontada a mitocôndria como a grande responsável pela origem da maior parte da produção dos radicais livres na célula. Embora ela tenha sido uma teoria bem aceita existem evidências conflitantes. Isto porque, outras evidências foram produzidas mostrando que em pequenas quantidades estas moléculas de espécies reativas de oxigênio (EROS) ou espécies intermediárias de oxigênio (EIOs) são fatores de sinalização celular participando em várias rotas metabólicas. Este é o caso, por exemplo do óxido nítrico e do peróxido de hidrogênio. Deste modo, hoje em dia acredita-se que é o desbalanço entre a produção e a catálise de radicais livres e outras moléculas com poder oxidante, os responsáveis pelo desencadeamento e aceleração dos processos de envelhecimento e doenças crônico-degenerativa (LIU et al., 2014).

Portanto, o envelhecimento está diretamente associado ao aumento dos chamados processos de “estresse oxidativo” no organismo que, por sua vez estão intimamente relacionados com outras rotas metabólicas corporais, em especial com o metabolismo inflamatório. Existe um conjunto robusto de evidências que mostram que muitas doenças crônicas associadas a idade apresentam um desbalanço oxidativo-inflamatório continuado. Este é o caso da obesidade, o diabetes, a hipertensão, a dislipidemia, o câncer, doenças cardiovasculares e neurodegenerativas (HUNG et al., 2010; HINDLE, 2009; REUTER-LORENZ e PARK., 2014; BERLETT e STADTMAN, 1997; LAKATTA, 2003; NEATON e WENTWORTH, 1992).

Nota-se que dessa forma, as DCNT podem comprometer aspectos funcionais importantes em indivíduos idosos devido a esse desbalanço. Estudos mostram que a

dependência para o desempenho das atividades de vida diária tende a aumentar cerca de 5% na faixa etária de 60 anos para cerca de 50% entre os com 90 ou mais anos (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2006).

1.4 MARCADORES ASSOCIADOS AO ENVELHECIMENTO E A LONGEVIDADE HUMANA

Apesar do envelhecimento biológico ser considerado a última fase do desenvolvimento humano, o mesmo pode ser acelerado ou desacelerado conforme a influência de fatores genéticos, bioquímicos e ambientais, os quais podem influenciar os estados de saúde e fragilidade dos idosos, e dessa forma interferir no risco de morbi-mortalidade deste grupo etário da população. A determinação de marcadores associados aos processos de envelhecimento é de grande importância, especialmente se estes não forem demasiadamente suscetíveis as variações ambientais as quais os indivíduos estão expostos. Diversos autores relatam a importância de diversos marcadores bioquímicos e genéticos associados ao processo de envelhecimento (AVIV, 2011; SAMANI e VAN DER HARST, 2008; SPOTT, 2010; MASORO e AUSTAD, 2011; KENYON, 2010)

Uma vez que o estresse oxidativo tem sido associado com envelhecimento e doenças relacionadas, muitos estudos têm buscado encontrar marcadores sanguíneos que possam indicar disfunções e risco de doenças crônicas. Deste modo, a literatura é rica em investigações da possível associação entre moléculas marcadoras de estresse oxidativo que medem lipoperoxidação (TBARS), enzimas antioxidantes (superóxido dismutases, catalases, glutathione peroxidase), moléculas antioxidantes não-enzimáticas (vitamina C, vitamina E, glutathione, carotenoides, etc.) entre outras (SYSLOVA, 2014; ABDOLLAHI et al., 2014). Entretanto, os resultados muitas vezes não são consistentes já que outros fatores genéticos e principalmente ambientais, como a dieta, exercício físico e estresse emocional podem incidir sobre as concentrações destas moléculas no sangue periférico.

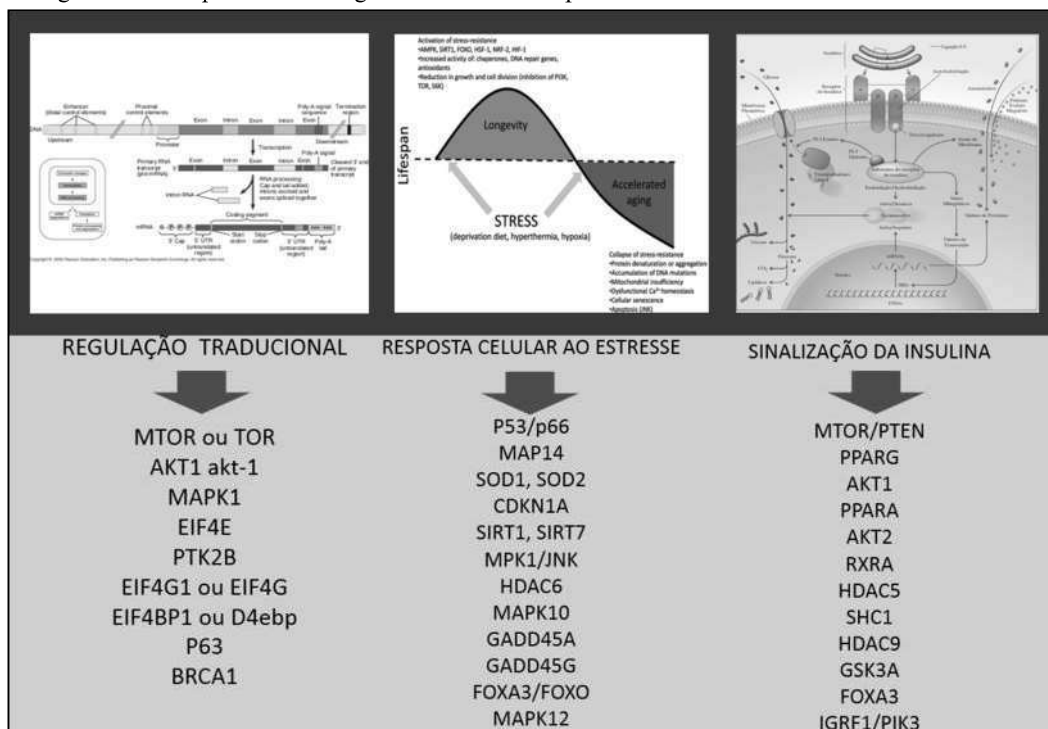
Deste modo, ainda existe a necessidade da identificação de marcadores que estimem o risco de disfunções, doenças crônico-degenerativas ou mesmo de morte em idosos. Um destes marcadores que poderia ser marcador de sobrevivência ou longevidade na velhice seria os

produtos avançados de oxidação proteica, AOPP, sigla em língua inglesa que significa “*advanced oxidation protein products*” (PRASAD et al., 2014; PRASAD et al., 2014).

A respeito dos fatores genéticos envolvidos no processo de envelhecimento, atribui-se o nome de gerontogenes, aos genes envolvidos no processo de envelhecimento e longevidade nos organismos, o que pode ser visto na figura 2. A classificação destes é feita de acordo com o mecanismo utilizado para prolongar ou encurtar o tempo de vida dos organismos: são classificados como reguladores de vida útil, mediadores, efetores, genes constitutivos-manutenção da função celular básica, genes envolvidos em funções mitocondriais, e genes que regulam a senescência celular e apoptose (Figura 2) (MOSKALEV et al., 2014).

A frequência genotípica dos genes que não estão relacionados com o processo de envelhecimento não difere entre pessoas jovens e idosas com o passar dos anos, entretanto a frequência de certos genótipos muda com o passar do tempo. Dessa forma, a ação de um único gene pode ter um grande efeito na longevidade, entretanto o estilo de vida e os fatores aos quais este organismo está sendo exposto podem ter um grande impacto na ativação ou inativação destes genes (ADAMS, 2008).

Figura 2 - Principais classes de genes envolvidos no processo de envelhecimento



(MOSKALEV et al., 2014).

Williams (1957) formulou uma das primeiras teorias que cogitava a possibilidade de genes pleiotrópicos, genes de múltiplos efeitos, podem desempenhar alguma influência no processo do envelhecimento.

Dessa maneira fica claro que as alterações moleculares podem ocorrer tanto a nível genéticos e epigenéticos e estão intimamente relacionadas a fatores ambientais e hereditários. Este complexo multifatorial determina características como longevidade e tempo de vida, preocupações centrais na existência humana.

Assim sendo, através do exposto, torna-se evidente a crescente importância da demanda de mais estudos relacionados aos diversos aspectos do envelhecimento, principalmente com relação ao seu impacto na saúde humana e nas DCNT. Descobrir como os fatores genéticos interagem com os fatores ambientais e de que forma estes contribuem para a longevidade é um aspecto ainda desconhecido, existindo a necessidade de mais estudos a respeito (MURABITO et al., 2012).

1.4.1 PRODUTOS AVANÇADOS DE OXIDAÇÃO DE PROTEÍNA (AOPP) COMO MARCADOR GERONTOLÓGICO

Produtos avançados de oxidação proteica (AOPPs) foram descritos pela primeira vez por Witko-Sarsat et al. (1996) descrevendo a presença de altos níveis de proteínas oxidadas no plasma de pacientes em hemodiálise. A ação de radicais livres, principalmente o ácido hipocloroso, desencadeia uma oxidação proteica, especialmente em proteínas mais abundantes como é o caso da albumina, produzindo dessa forma produtos chamados produtos proteicos de oxidação avançada (AOPP). A ação de oxidantes cloraminados principalmente ácido hipocloroso e cloraminas produzidos pela mieloperoxidase (MPO) em neutrófilos ativos em proteínas circulantes no plasma, pode levar a formação de AOPP (KAWAKAMI, et al., 2006).

AOPP pode ser definido como uma ditirosina ligada a um produto proteico e é considerado um marcador confiável para estimar o grau de oxidação proteica. Seu transporte ocorre através de proteínas plasmáticas, especialmente albumina, e AOPP pode ser formado *in vitro* pela exposição da albumina sérica ao ácido hipocloroso (HOCl) (WITKO-SARSAT et al., 1996, IWAO et al, 2006).

Estudos *in vitro* apontaram os aminoácidos ditirosina e tirosina como marcadores estáveis (resistentes à hidrólise ácida) e, dessa forma, a quantificação de aminoácidos oxidados consiste em uma possibilidade para aferição, *in vivo*, do dano oxidativo da proteína (LEEUWENBURGH e HEINECKE, 2001).

A AOPP é um marcador representado pelo conjunto de produtos de oxidação proteica que têm propriedades pró-inflamatórias, já que derivam especialmente da oxidação da albumina (seus agregados ou fragmentos), e também de fibrinogênio e lipoproteínas. Na sua estrutura existe uma grande abundância de di-tirosinas e grupos carbonila (CAPEILLÈRE-BLANDIN et al., 2004). Fisiologicamente, este marcador é produzido em pequenas quantidades ao longo da vida do indivíduo, sendo degradadas no fígado e pâncreas via ação de enzimas mieloperoxidases (MPOs) (CAPEILLÈRE-BLANDIN et al., 2004; PRASAD et al., 2014).

Níveis aumentados de AOPPs indicam estados de estresse oxidativo e coexistência de estados inflamatórios, já que tais moléculas intensificam reações de oxidação (*oxidative burst*) e também a síntese de citocinas inflamatórias pelos neutrófilos e macrófagos (MERA et al., 2005). Concentrações significativamente mais elevadas de AOPP são observadas em vários estados patológicos, como é o caso do diabetes mellitus (PIWOWAR et al., 2010). Diversos autores também têm descrito associação entre níveis elevados de AOPP com uremia (WITKO-SARSAT et al., 1999), nefropatias (DESCAMPS-LATSCHA et al., 2004, DESCAMPS-LATSCHA et al., 2001), doença arterial coronariana (KANEDA et al., 2002; DESCAMPS-LATSCHA et al., 2005; FENG et al., 2010; BARSOTTI et al., 2011), diabetes do tipo 2 (VENTURINI et al., 2012; PIWOWAR et al., 2010), síndrome metabólica (ZURAWSKA-PŁAKSEJ et al., 2014), depressão relacionada ao tabagismo (VARGAS et al., 2013), e alguns tipos de câncer como o câncer colorretal (AVINASH et al., 2009; KILIC et al., 2014). Apesar da emergência de estudos associando níveis elevados de AOPP com morbidades prevalentes nos idosos, ainda não foram realizadas investigações sobre o impacto dos níveis da AOPP na mortalidade de idosos.

Por este motivo, investigações sobre a AOPP como um fator bioquímico relacionado a sobrevivência e/ou mortalidade de idosos podem ser consideradas científica e epidemiologicamente relevantes.

1.4.2 SEROTONINA: GENE PLEIOTRÓPICO COMO MARCADOR GERONTOLÓGICO

Levando-se em consideração a maneira a qual o processo de envelhecimento está intimamente ligado a fatores genéticos e, estes estão relacionados também a fatores ambientais, os melhores marcadores genéticos são aqueles capazes de determinar também a ação de fatores genéticos, fisiológicos e psicológicos sobre o organismo, no caso, genes pleiotrópicos (D'AQUILA, 2013).

Este é o caso da serotonina, uma molécula regulatória que atua no sistema nervoso central (SCN), exercendo funções tanto a nível fisiológico, quanto a nível emocional, capaz de interferir na longevidade, podendo inclusive aumentar o risco de disfunções e doenças com risco de morte, o que é muito relevante na longevidade (RODRÍGUEZ-RODERO et al., 2011; SCHINKA, et al., 2004).

Estudo realizado por Jobim e colaboradores (2008) revelou que um polimorfismo presente no gene receptor de serotonina T102C-5HT2a pode estar associado à longevidade (JOBIM et al., 2008).

Dentro dos marcadores celulares, moléculas produzidas por alterações no metabolismo oxidativo representam um foco de estudo importante para a identificação de marcadores bioquímicos de risco de morbi-mortalidade no idoso. Entretanto, muitas destas moléculas não chegam a representar o estado funcional do sistema nervoso já que o controle da barreira hematoencefálica é bastante eficiente. Por este motivo, o estudo de marcadores de moléculas e receptores que podem afetar o envelhecimento do sistema nervoso é mais limitado em seres humanos e mais estudado em modelos experimentais roedores. Uma estratégia que permite a investigação de moléculas fisiológicas que atuam no sistema nervoso central as quais estão associadas ao risco de morbi-mortalidade do idoso é a análise de polimorfismos genéticos, alterando o funcionamento destas moléculas. Assim, a investigação de marcadores genéticos associados a alterações neurobioquímicas e neurofisiológicas, como é o caso do sistema serotoninérgico possuem grande relevância para auxiliar a desvendar este intrincado processo chamado envelhecimento.

1.4.2.1 SEROTONINA -5-HIDROXITRIPTAMINA OU 5HT: CARACTERIZAÇÃO E MECANISMOS DE AÇÃO

A Serotonina também conhecida como 5-Hidrotriptamina (5HT) ou 3-(2-aminoetil)-1H-indol-5-ol, é uma monoamina originada a partir do Triptofano, o qual também participa da síntese de outras monoaminas (Figura 3). Esta molécula que pertencente ao grupo das monoaminas, foi descrita pela primeira vez em 1948 (RAPPORT et al., 1948 a, RAPPORT et al., 1948 b, RAPPORT et al., 1948 c). O nome Serotonina surgiu após a purificação de uma substância descoberta como vasoconstritor, pois a mesma foi obtido a partir do soro ("serum") e poderia influenciar o tônus vascular ("tonin") nos vasos sanguíneo (RAPPORT et al., 1948 a).

Sua síntese ocorre a partir da descarboxilação e hidroxilação do aminoácido triptofano, processo realizado pelas enzimas triptofano hidroxilase (TPH), e L-aminoácido aromático descarboxilase. Essas enzimas são encontradas no citoplasma dos neurônios serotoninérgicos. A serotonina é concentrada e armazenada no interior de vesículas localizadas nos axônios, corpos celulares e dendritos destes neurônios. A localização dos neurônios serotoninérgicos no sistema nervoso central é predominantemente nos núcleos medianos da rafe, desde o tronco cerebral até a medula (GOLAN, 2009; GILMAN,2012; CINTRA e RAMOS, 2011).

A serotonina possui influência em diversas funções neurológicas, estimulando o sistema GABA e dessa forma regulando o humor, ciclo sono/vigília, a atividade sexual, o apetite, o ritmo circadiano, as funções neuroendócrinas, a temperatura corporal, a sensibilidade à dor, a atividade motora e as funções cognitivas. Atua também no eixo neuroendócrino e possui como alvo diferentes células corporais, as quais podem possuir um ou mais receptores de serotonina (5-HT_{2A}) nas suas membranas. A nível periférico, possui influência nos tônus muscular e vasomotor, agregação plaquetária e também em diversos processos inflamatórios (GOLAN, 2009; GILMAN, 2012; CINTRA; RAMOS, 2011).

Estudos indicam que moléculas como as monoaminas apareceram há muito tempo na história evolutiva, estando presentes nos mais diversos reinos, possuindo papel de extrema importância no desenvolvimento e plasticidade destes organismos. As monoaminas podem ser produzidas no interior da célula ou pode entrar nela, atuando diretamente em alguns dos sistemas de sinalização intracelular e causando alterações no estado funcional celular, favorecendo a adaptação do organismo ao seu ambiente. Distúrbios serotoninérgicos ocorridos

durante o desenvolvimento podem levar a alterações permanentes e profundas no sistema nervoso (WHITAKER-AZMITIA, 2001; AZMITIA, 2007; TURLEJSKI., 1996).

Quanto a distribuição da serotonina entre os reinos, no reino Protista, a serotonina mostra-se presente em representantes do gênero *Tetrahymena* e, neste gênero age como um regulador intracelular através da rota de sinalização da adenil-ciclase e AMP-cíclico, sendo encontrado também neste protozoário a enzima monomina oxidase (MAO) e a catechol-3-methyl transferase-like (COMT) (FELDMAN et al., 1977; CSABA, 1993, CSABA, 1978; CSABA e UBORNYHK, 1981), ambas enzimas presentes também em mamíferos. Pode-se verificar a presença de serotonina em *Helisoma trivolvis* (*Mollusca*)(GLEBOV et al, 2014).

A maior variedade de receptores e transportadores de serotonina ocorre em representantes do Reino Animalia. Nestes, podemos citar representantes do filo Platyhelminthes, da família Planariidae, esta molécula influencia a regeneração, (MÄNTYLÄ et al., 1998; FRANQUINET, 1979; FRANQUINET et Al, 1978; CSABA e BIERBAUER 1974).

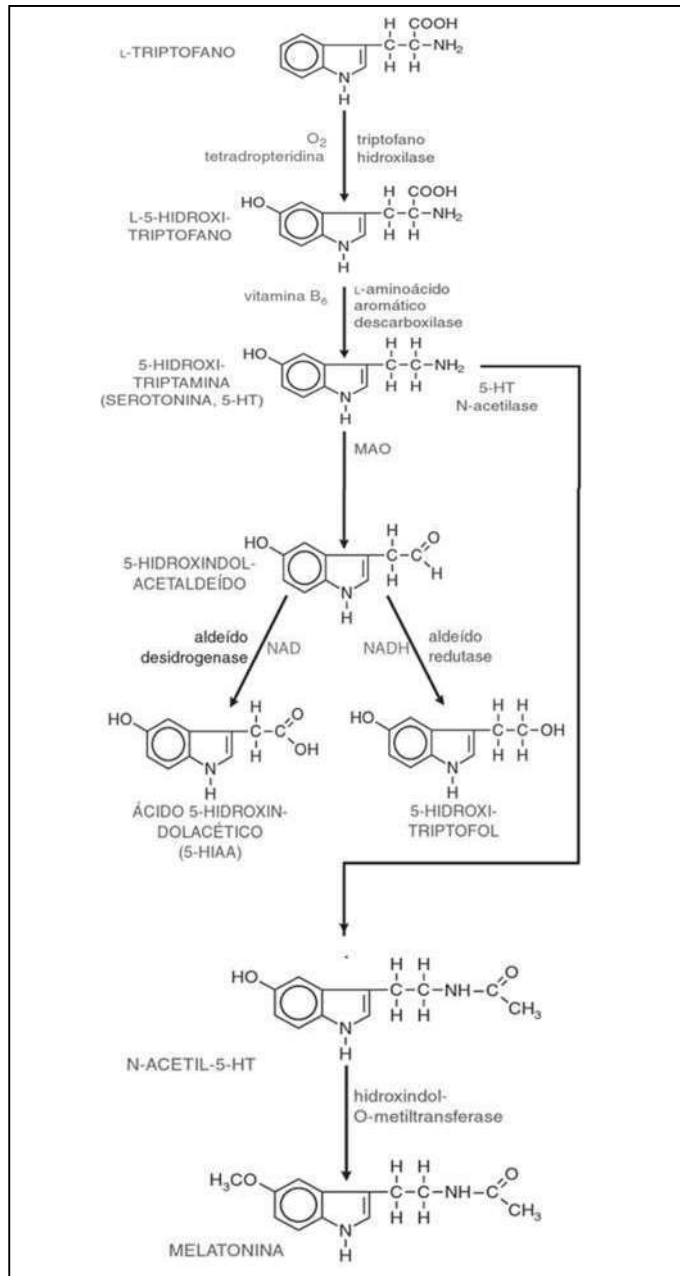
Ainda foi encontrada serotonina em outros exemplares de platelmintos, representantes da Família *Fasciolidae* (MANSOUR et al, 1960; FAIRWEATHER, et al, 1987). Ainda no reino Animalia, no Filo Arthropoda, em gêneros como *Homarus* e *Cherax* pode-se encontrar neurônios serotoninérgicos, e a serotonina age como neuromônios, atuando principalmente no desenvolvimento embrionário e, alguns estudos indicam que esta molécula talvez esteja também ligada ao comportamento agressivo nesses animais (HUBER et al., 1997).

Os mamíferos exibem a maior variedade de receptores e transportadores de serotonina. A localização dos neurônios serotoninérgicos encontra-se presente no núcleos medianos da rafe e as projeções serotoninérgicas para a medula espinal estão envolvidas na percepção da dor, regulação visceral e controle motor, enquanto as projeções para o prosencéfalo são importantes na modulação do humor, na cognição e na função endócrina e agregação plaquetária (BOULLIN et al., 1975(a); BOULLIN et al., 1975(b); COOK, et al., 1994; BAMPALIS, 2011; PRZYKLENK, et al., 2010; KHAIT, 2005).

O ciclo metabólico completo da serotonina envolve a sua síntese, armazenamento, captação e transporte e degradação (GOLAN, 2009). A Síntese da serotonina pode ser descrita em duas etapas principais: do triptofano para 5-hidroxitriptofano (5-HTP) e então para 5-hidroxitriptamina (serotonina 5-HT). A primeira etapa abrange a produção da serotonina a

partir do aminoácido triptofano pela enzima Triptofano Hidroxilase (TPH), que converte o triptofano em 5-hidroxitriptofano.

Figura 3- Síntese e degradação da serotonina.



(GILMAN, 2012)

O TPH está presente no cérebro quase sempre na sua isoforma TPH2, e esta enzima utiliza Fe^{2+} como cofator e oxigênio e tetrahidrobiopterina (BH4) como co-substrato. As concentrações de BH4 no sistema nervoso central não estão nos níveis de saturação para a TPH, e além disso a TPH exerce somente uma fração da sua velocidade máxima (V_{max}). O próximo passo é conversão do 5-hidroxitriptofano em serotonina pela enzima L-aminoácido aromático descarboxilase. O armazenamento da serotonina ocorre no interior de vesículas localizadas nos axônios, corpos celulares e dendritos. A 5HT é transportada em vesículas por intermédio do transportador de monoaminas vesicular (VMAT, vesicular monoamine transporter) (GOLAN, 2009, GILMAN., 2012).

Os transportadores de receptação seletiva da serotonina reciclam a 5HT da fenda sináptica de volta ao neurônio pré-sináptico. A retirada da serotonina da fenda sináptica dá-se através da sua recaptação pelo sistema nervoso, sendo removida das sinapses após sua liberação, por um processo de receptação pelo neurônio pré-sináptico. Os transportadores de recaptação seletiva de monoaminas são proteínas que atravessam dozes vezes a membrana e acoplam o transporte do neurotransmissor ao gradiente de sódio transmembrana. Ao contrário, do VMAT que é um transportador inespecífico de monoaminas, os transportadores de receptação de monoaminas são altamente seletivos, como o transportador da serotonina (SERT). Quando a 5HT retorna ao citoplasma neuronal, o neurotransmissor é transportado em vesículas através do VMAT ou sofre degradação pelo sistema Monoamina Oxidase (MAO). As MAO são enzimas mitocondriais que regulam os níveis de monoaminas nos tecidos neurais e que inativam as monoaminas, sendo que as monoaminas existem sob duas isoformas. As duas isoformas MAO-A e MAO-B diferem quanto a especificidade do seu substrato: a MAO-A oxida a 5HT enquanto a MAO-B oxida preferencialmente a Dopamina. As monoaminas inativam as monoaminas através da desaminação oxidativa, utilizando uma flavina funcional como aceptor de elétrons (GOLAN, 2009, CHABNER et al., 2012).

A fonte do triptofano encefálico é o sangue e a fonte do triptofano circulante é a dieta, incluindo principalmente grãos, carne e laticínios. A circulação do triptofano livre no plasma é de cerca de 10%, ou também, principalmente, ligado a uma proteína de transporte: a albumina 90%. Na barreira hematoencefálica, o triptofano livre (TRPL) compete com outros cinco aminoácidos neutros: leucina, isoleucina e valina tirosina e fenilalanina para seu transporte e conseqüente síntese de serotonina cerebral. Sendo o triptofano um aminoácido neutro, ele compete com os demais aminoácidos neutros que utilizam o mesmo transportador para ultrapassar a barreira hematoencefálica, sendo que a baixa permeabilidade desta ao triptofano

exige que este utilize a proteína transportadora de aminoácidos neutros, num processo de transporte ativo. Dessa forma, o aminoácido triptofano e o 5-hidroxitriptofano precursores da serotonina, quando são absorvidos, o triptofano pode ser levado até o sistema nervoso central (SNC) onde será convertido em 5-HT, ou então permanecer na periferia. A seguir sofre a ação das enzimas TpH e convertendo-o em serotonina (5-HT), que é transportada até serem armazenadas em vesículas pré-sinápticas. (MEEUSEN e DE MEIRLEIR , 1995; MELTZER e LOWY , 1987; MUNRO , 1970; GOLAN, 2009, CHABNER et al., 2012).

A biossíntese de serotonina é fortemente controlada pela atividade da enzima triptofano hidroxilase, então os níveis de seu substrato, triptofano, desencadeia um aumento ou decréscimo na síntese de serotonina. Quanto a produção de serotonina, o sistema nervoso central possui uma baixa produção de serotonina, cerca de 5%, sendo produzida pelos neurônios presentes núcleos da rafe mediana do tronco cerebral e que se projetam para muitas áreas cerebrais. No sistema digestório ocorre a maior parte da produção da serotonina, 95%, sendo que neste local a serotonina é produzida pelas células enterocromafins, presente ao longo de todo sistema digestório e pancreático. Os principais sítios de ação da serotonina incluem as plaquetas, a musculatura lisa (intestino e vasos sanguíneos) córtex cerebral, hipocampo e núcleo caudado. Dessa forma, a serotonina atua sobre diversas funções biológicas, comportamentais e principalmente participando da modulação do humor através de seus receptores (CHABNER et al., 2012; BERGER et al., 2009).

O transportador de serotonina regula o sistema serotoninérgico através da modulação da concentração extracelular de serotonina. Disfunções na síntese do transportador de serotonina por contribuir para o aparecimento de diversas desordens neuropsiquiátricas como ansiedade, depressão, transtorno bipolar, alcoolismo, desordens afetivas e até mesmo suicídio (MARTINOWICH e LU, 2008; WIN et al., 2004; BELLIVIER et al., 2000; GORWOOD, 2000).

Quanto aos receptores, foram caracterizados múltiplos subtipos de receptores de 5HT, e todos eles, à exceção de um (5HT3), estão acoplados à proteína G . Em geral, a classe de receptores 5HT1 inibe a adenilil ciclase, a classe 5HT2 aumenta a renovação do fosfatidilinositol, e as classes 5HT4, 5HT6 e 5HT7 estimulam a adenilil ciclase. O único canal iônico regulado por ligante conhecido é o receptor 5HT3, embora vários subtipos de receptores de 5HT ainda não estejam totalmente caracterizado (PYTLIAK et al., 2011; KROEZE et al, 2002; SHIH et al, 1991). A eficácia de um grande número de fármacos baseia-se, pelo menos

parcialmente, na sua capacidade de interagir com, ou modular a atividade desses vários receptores (KROEZE et al, 2002).

Receptores de serotonina podem ser classificados em 4 famílias : (1) 5-HT₁, (2) 5-HT₂, (3) 5-HT₄ A 7, (4) 5-HT₃. Nas famílias 1, 2, 3 os receptores estão ligados a proteína G e na família 4 os receptores são ligantes dos canais dois íons Na⁺ e K⁺ (BARNES e SHARP, 1999) (tabela 2)..

Tabela 2 – Resumo dos principais receptores, sua localização e mecanismos (PYTLIAK et al, 2011, SHIH et al, 1991; KROESE et al, 2002; BARNES e SHARP, 1999).

Receptores	Potencial	Tipo	Distribuição	Mecanismo
5-HT₁	Inibitório	G _i /G _o - acoplado a proteína G	Núcleos da rafe, hipocampo, substância Negra, paleoestriado, cerebelo, gânglios basais, cortex cerebral, hipocampo	↓AMPc Canais K ⁺
5-HT₂	Excitatório	Gq11- acoplado proteína G	Plaquetas, músculo liso, cortex cerebral, fundo estômago, hipocampo, substância Negra, núcleo da rafe, plexo coróide	↑ IP3, DAG
5-HT₃	Excitatório	Canais Ionotrópicos Na ⁺ , K ⁺	Área Postrema (uma região do bulbo envolvida com os vômitos) e outras partes do tronco encefálico, estendendo até o corno posterior da medula espinal (CPME)	Canais Ionotrópicos Na ⁺ , K ⁺
5-HT₄	Excitatório	G _s proteína acoplada	Sistema Nervoso, neurônios mesentéricos e músculo liso, hipocampo e trato gastrointestinal.	↑ AMPc
5-HT₅	Inibitório	G _i /G _o - acoplado a proteína G	Sistema Nervoso	↓AMPc
5-HT₆	Excitatório	G _s proteína acoplada	Sistema Nervoso	↑ AMPc
5-HT₇	Excitatório	G _s proteína acoplada	Sistema Nervoso, hipotálamo, intestino	↑ AMPc

cAMP = AMP cíclico; IP3 = 1,4,5-trifosfato de inositol; DAG = diacilglicerol

1.4.2.2 CARACTERIZAÇÃO DO POLIMORFISMO GENÉTICO T102 C DO GENE HTR2A (5HT2A)

O receptor 5HT2a é codificado pelo gene HTR2a, que em humanos este gene se encontra no cromossomo 13 e possui diversos polimorfismos, 471 aminoácidos e 52603 Da de tamanho . Possui 9 polimorfismos, dentre eles o polimorfismo T102C associado as mais diversas patologias, tanto a nível fisiológico quanto comportamental (Tabela 4).

O polimorfismo T102C do gene receptor da serotonina 5HT2a foi primeiramente descrito por Chen em 1992, descrevendo-o presente no cromossomo 13 (13q14-21) contendo 3 exons 412, 201 e 800 pb respectivamente, e, sendo uma mutação pontual e silenciosa, isto é, apesar da mutação ocorrer, o aminoácido gerado ainda é o mesmo Dessa forma, alguns autores apontam para o desequilíbrio de ligação existente entre polimorfismos do promotor e receptor do gene como responsável pela modulação da expressão gênica dos receptores de serotonina (ARIAS et al, 2001; LIOLISTA et al., 2001; NISHIGUSHI et al., 2001) (Tabela 3).

O polimorfismo ocorre na posição 34^o da sequência de Aa, na posição 102 do início do gene, sendo o alelo C seu aleo. Dessa forma onde ocorre a inserção do alelo T na sequência TCC que codifica uma serina, gera uma nova sequência, TCT que codifica o mesmo aminoácido, serina. Este polimorfismo encontrado no exon 1 deste gene T102C-5HT2a, (substituição de uma timina por uma citosina na posição 102) tem sido associado com diversos transtornos psiquiátricos, principalmente porque relatou-se que ele afeta o número de receptores presentes na membrana celular (POLESSKAYA e SOKOLOV, 2002). No caso, os alelos deste polimorfismo, T e C, determinam níveis diferentes de expressão gênica: o alelo T determina cerca de 20% a mais na expressão gênica dos receptores 5ht-2a, em relação ao alelo C. Genótipos CC possuem 20% de receptores a menos do que o genótipo TT e o genótipo intermediário, CT, possui uma concentração intermediária de receptores (POLESSKAYA e SOKOLOV, 2002; DE LUCA et al., 2007).

Estudos têm sugerido que alterações genéticas ou no transportador da serotonina ou em alguns dos seus receptores, com destaque ao receptor 5HT2A estão associadas a um maior risco de obesidade (PRADO-LIMA et al., 2006; NACMIAS et al., 1999; RICCA et al, 2002; LEIBOWITZ ,1990).

Tabela 3.-. Receptores de serotonina com seus respectivos locus gênicos

	RECEPTOR	LOCUS			RECEPTOR	LOCUS
1	5HT1A	5q11.2-q13		10	5HT3B	11q23.1-23-2
2	5HT1AB	6q13		11	5HT3C	3q27
3	5HT1AD	1.36.3-p34.3		12	5HT3D	3q27
4	5HT1AE	6q14-15		13	5HT3E	3q27
5	5HT1AF	3p11-12		14	5HT4	5q31-q33
6	5HT2A	13q14-21		15	5HT5A	7q36.1
7	5HT2B	2q36.3-37.1		16	5HT5B	2Q11-13
8	5HT2C	Xq23		17	5HT6	1p36-35
9	5HT3A	11q23.1-23-2		18	5HT7	10q23.3-24.3

(<http://www.genenames.org/genefamilies/HTR>)

O gene HTR2a já se mostrou envolvido em importantes processos de agregação plaquetária (COOK ET AL, 1994; ORR, BOULLIN et al. 1975 a; BOULLIN et al., 1975 b) e hipertensão (LIONISTA et al., 2001). Entretanto, poucos são os dados que relatam a influência direta entre a associação deste polimorfismo T012C 5HT2a com metabolismo oxidativo (HALDER et al., 2007). Os receptores 5HT2a mostraram-se associados com a contração do músculo liso, pressão arterial agregação plaquetária e formação de trombo e espasmos da artéria coronária. Antagonistas seletivos de 5HT2a podem ter potencial para tratamento de doenças cardiovasculares (NAGATOMO et al., 2004; SAXENA e LAWANG, 1985).

Os receptores 5HT estão envolvidos na fisiopatologia e fisiologia do sistema renal e cardiovascular, sendo que, dessa forma, estes receptores podem contribuir para doenças como cardiovasculares, doenças coronarianas, hipertensão pulmonar, embolia pulmonar, pre-eclâmpsia, doença vascular periférica e diabetes nefropática. Consequentemente, moduladores do receptor 5HT possuem potencial para tratamento de patologias cardiovasculares (KAHN et al., 1992; ITO et al., 2000).

O polimorfismo T102C-HTR2a foi associado como fator de risco para aumento da pressão arterial em fêmeas, devido a seus efeitos simpatomiméticos. A possibilidade deste receptor estar ligado a hipertensão já foi sugerido em outros estudos, podendo favorecer a suscetibilidade para Infarto agudo miocárdio em portadores do genotipo TT do polimorfismo T012C, sendo que este polimorfismo apontado como novo marcador para infarto agudo do miocárdio (YAMADA et al., 2002; VAN ZWIETEN, 1987).

Tabela 4 - Principais desordens associadas ao polimorfismo T102C/ rs6313

PATOLOGIA	ALELO/GENÓTIPO	REFERÊNCIA
AGREGAÇÃO PLAQUETÁRIA	TT + 38%	OZDENER et al., 2005 KHAIT et al., 2005
DESORDENS ALIMENTARES	C/CC	PRADO-LIMA et al., 2006 NACMIAS et al., 1999 RICCA et al, 2002 LEIBOWITZ,1990
ESQUIOSOFRENIA	C/CC	WILLIMANS et al., 1997 SPURLOCK et al., 1998 POLESSKAYA e SOKOLOV, 2002
INFARTO AGUDO MIOCÁRDIO (HOMENS)	TT	YAMADA ET AL., 2000
DISCINESIA TARDIA	C	SEGMAN et al., 2003 WALN e JANKOVIC, 2013 CHANG e FUNG, 2014 TAN, 2001
SINDROME TOURETE/ COMPORTAMENTO OBSESSIVO COMPULSIVO	C	HUANG et al., 2001
RESISTÊNCIA A RISPERIDONA/ ESQUIOSOFRENIA	C/CC	JOOPER et al., 1999 VAQUERO et al., 2006 ARRANZ et al.,1995 PEÑAS-LLEDÓ et al., 2007
ESQUIOSOFRENIA PARANÓIDE	CC	GALAKTIONOVA et al., 2012

DEPRESSÃO/SUICÍDIO	CC	DU et al., 2001 GONZÁLEZ-CASTRO et al., 2013 ANTYPA et al., 2013
FUMO	C	DO PRADO-LIMA et al., 2004 WHITE et al., 2011 WILSON et al., 2013
ALCOOL/COMPORTAMENTO IMPULSIVO	CC/C	ENGEL et al., 1992 JAKUBCZYK et al., 2011 DRUSE et al., 1997 BJORK et al., 2002 NOMURA et al., 2006 WILSON et al., 2013
TRANSTORNOS DE PERSONALIDADE	C/ MAO	NI et al., 2006 NI et al., 2007 HANSENNE et al., 2002
VÍCIO JOGOS	CC	WILSON et al., 2013
BAIXOS NÍVEIS COLESTEROL HDL	CC	CHOI et al., 2005
ATEROSCLEROSE, DOENÇAS CARDIOVASCULARES , INFARTO AGUDO DO MIOCÁRDIO	TT	VAN ZWIETEN, 1987 YAMADA et al., 2000 COTO et al., 2003 KAUMANN e LEVI, 2006 DOGGRELL, 2003

2 OBJETIVO

2.1 OBJETIVO GERAL

Analisar a associação do marcador oxidativo AOPP e do polimorfismo T102C-5HT2A com a longevidade e indicadores bioquímicos, fisiológicos e de saúde de idosos Ribeirinhos residentes em Maués, Amazonas após 5 anos de seguimento (UFSM, Nº 23081.015838/2011-10)

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Em uma população de idosos ribeirinhos inseridos na Estratégia de Saúde da Família de Maués, Amazonas:

- Determinar os níveis de AOPP e sua potencial associação com a idade, sexo, marcadores bioquímicos do perfil lipídico, glicêmico, oxidativo (TBARS e óxido nítrico) e com morbidades prévias;

- Avaliar associação entre níveis elevados da AOPP com sobrevivência após cinco anos de seguimento;

- Determinar as frequências alélicas e genóticas do polimorfismo T102c-5HT2A avaliando sua potencial associação com morbidades prévias;

- Avaliar associação entre o polimorfismo T102c-5HT2A com sobrevivência após cinco anos de seguimento;

3. METODOLOGIA/ RESULTADOS

A metodologia utilizada neste estudo e seus respectivos resultados serão apresentados na forma de artigos.

Artigo 1:

SILVA, T. O. et al. Association between advanced oxidized protein products and 5-year mortality risks among amazon riverine elderly population. **Free radical research**, DOI 10.3109/10715762.2014.992895. 2014

Artigo 2:

SILVA, T. O. et al. Association between t102c 5-ht2a receptor gene polymorphism and 5-year mortality risk among brazilian amazon riparian elderly population. **American Journal of Human Biology**. 2017. (CARTA DE ACEITE EM ANEXO- ANEXO A)

Artigo 1:

SILVA, T. O. et al. Association between advanced oxidized protein products and 5-year mortality risks among amazon riverine elderly population. **Free radical research**, DOI 10.3109/10715762.2014.992895. 2014

ORIGINAL ARTICLE

Association between advanced oxidation protein products and 5-year mortality risk among amazon riparian elderly population

T. O. Silva^{1*}, I. E. C. Jung^{2*}, R. N. Moresco⁵, F. Barbisan², E. E. Ribeiro⁴, E. A. M. Ribeiro⁴, K. Motta⁴, E. Britto⁴, E. Tasch⁵, G. Bochi⁵, M. M. F. Duarte³, A. R. Oliveira³, M. Marcon³, C. Belló³, G. F. dos Santos Montagner³ & I. B. M. da Cruz^{1,2,3}

¹Programa de Pós-Graduação em Bioquímica Toxicológica, Universidade Federal de Santa Maria, Brazil, ²Programa de Pós-Graduação em Farmacologia, Universidade Federal de Santa Maria, Brazil, ³Laboratory of Biogenomic, Universidade Federal de Santa Maria, Brazil, ⁴Universidade Aberta da Terceira Idade, Universidade do Estado do Amazonas, Brazil, and ⁵Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Santa Maria, Brazil

Abstract

Proteins are important targets of several modifications caused by oxidative stress, leading to structural changes and consequently partial or total loss of their functions. The oxidized proteins include advanced oxidation protein products (AOPP) derived from oxidation-modified albumin, as well as fibrinogen and lipoproteins. An increase in AOPP levels indicates an oxidative stress state and the presence of coexisting inflammation. Several investigations have also suggested an association between high AOPP levels and aging-related diseases. However, the link between elevated AOPP levels and elderly mortality risk has not yet been investigated. Here, we report on a 5-year longitudinal study that investigated the potential association between AOPP levels and mortality using a population-based representative sample of riparian elders living in Brazilian Amazon region (Maués-AM). Age, sex, socioeconomic and cultural conditions, chronic morbidities, polypharmacy, and previous morbidities were also tested as potential confounders. The AOPP levels were measured in 540 (84.78%) individuals, all of whom were followed over a 5-year period in order to establish the mortality rate. Within this study period, 74 (13.7%) elders died and 466 (86.3%) survived. The AOPP levels were higher among the elders who died within the 5-year period (46.27 ± 40.6 mmol/L) compared with those who survived (36.79 ± 20.84 mmol/L) ($p = 0.002$). The analysis confirmed the link between high AOPP levels and mortality risk, independent of other intervenient factors. These results suggest that elevated AOPP levels could be used to predict mortality risk in elderly patients.

Keywords: advanced oxidation protein products, aging, epidemiology

Introduction

Many aging characteristics leading to dysfunction and chronic diseases are modulated by oxidative stress. This status is caused by imbalance between production and catalysis of reactive oxygen species, reactive nitrogen species, and other highly reactive mediators, such as advanced glycation end-products (AGEs) that attack macromolecules participating in body structure and function [1–3]. Proteins are important targets of several modifications caused by oxidative stress, such as oxidation, glycation, and conjugation with products of lipoperoxidation, leading to structural changes and consequently partial or total loss of function [1].

Among the oxidized proteins, advanced oxidation protein products (AOPP) derived from oxidation-modified albumin, as well as fibrinogen and lipoproteins, are of particular importance. AOPP are physiologically produced in small quantities during one's lifespan. They are being cleared from the organism by the liver and spleen, as a result of reaction between plasma proteins and chlorinate

oxidants produced by myeloperoxidase [4,5] and potentially by Fenton reaction [6]. Increased AOPP levels indicate an oxidative stress state and coexisting inflammation, since these molecules trigger the oxidative burst and the synthesis of inflammatory cytokines in neutrophils and monocytes [7].

Several authors have described the association between high AOPP levels and uremia [8], nephropathies [9], coronary artery diseases, major adverse cardiac events [10–13], type 2 diabetes [14–16], metabolic syndrome (MS) [17], depression related to smoking habit [18], and some types of cancer: colorectal carcinoma [19,20] and breast cancer [21].

However, whether elevated AOPP levels could be associated with elderly mortality risk had not been investigated to date. Therefore, the major objective of this study is to test the association between AOPP levels and mortality. This research thus follows a 5-year longitudinal study design, using a population-based representative sample of riparian elders living in Brazilian Amazon region (Maués-AM). Age, sex, socioeconomic

*The two first authors contributed equally to development of the study.

Correspondence: Ivana B.M. da Cruz, Av Roraima 1000, Prédio 19, Santa Maria-RS, 97105900, Brazil. Tel/Fax: 55-55-32208163. E-mail: ibmcruz@hotmail.com

(Received date: 26 September 2014; Accepted date: 25 November 2014; Published online: 23 December 2014)

and cultural conditions, chronic morbidities, polypharmacy, and previous morbidities were also tested as potential confounders.

This population was chosen because elderly individuals living in highly urbanized areas generally present several sociocultural, economic, and lifestyle differences. They have easy access to health services, and a multitude of other factors can influence the results obtained. In contrast, the riparian elderly population studied here is characterized by uniformity in terms of several sociocultural, economic, lifestyle (including dietary pattern), and other environmental aspects. Moreover, as they typically enjoy good health, all individuals included in this study exhibited high physical function at the start of the research period [22].

Materials and methods

Study population

This investigation focused on the riparian elders treated by Family Health Program (FHP), a public and free Brazilian health service. The study participants live in Maués-AM city, located in Amazon Rainforest Region, which is accessible by boat or plane only. This partial isolation limits the use of specialized health services and medical treatment available only in Manaus, which is the largest city of Amazonas State. The study commenced in 2009 and included all individuals in this region who were at least 60 years old at the time. The socioeconomic, cultural, health, lifestyle, fitness, and biochemical indicators of these subjects were previously evaluated and described in two cross-sectional studies [19,23]. Therefore, this is a complementary study that follows a longitudinal epidemiological design, aiming to evaluate the association between AOPP levels and mortality of riparian elders. This study is part of a project previously approved by the Ethical Committee of the University of the State of Amazonas. Since the vast majority of the elders included in this study were illiterate, oral consent or fingerprint was obtained to indicate their voluntary participation in the investigation, which was sought after the researchers read the consent form to the volunteers.

Data collection

The study population consisted of 637 individuals, who took part in the first phase of the study, conducted in July 2009. At this time, these people were also evaluated by a multidisciplinary research team, which included a physician, a nurse, a nutritionist, a psychologist, a physical educator, a physiotherapist, and several biologists. A structured interview was conducted to obtain the following data: demographic variables (education, income, marital status, and occupation), as well as lifestyle (smoking habit), central venous catheter (CVC) risk factors (hypertension, type 2 diabetes, obesity, dyslipidemia, and metabolic syndrome), history of previous chronic diseases (including

CVC morbidities and hospitalization in the last year), and use and quantity of daily medication [19].

Anthropometric data collection, as well as functional and balance variables, were collected at this stage, following the methodology described by Kilic N et al. [20] and Avinash SS et al. [19]. The standard desk mercury sphygmomanometers (Wanross®) and stethoscopes (Littman®) were used to assess blood pressure (BP), which was measured at least 30 minutes after the last caffeine intake or cigaret smoked. Two measurements were taken with an initial rest of five minutes and subsequently at two-minute intervals, when an increased diastolic (DBP) or systolic blood pressure (SBP) was recorded.

To perform the biochemical analysis, peripheral blood was collected by venipuncture in the morning (20 mL), as well as after an overnight fast of at least 12 hours. Snacks and coffee were offered to the subjects following this procedure. The blood samples were collected in lithium heparin and ethylenediaminetetraacetic acid and were subsequently frozen and stored at -4°C until needed for biochemical analyses. The following blood tests were performed: (1) glucose, total cholesterol, high-density lipoprotein cholesterol (HDL-c), low-density lipoprotein cholesterol (LDL-c), and triglycerides (TG); (2) total cholesterol, HDL-c, TG, uric acid, and glucose (determined by enzymatic colorimetric methods using commercial kits); (3) total cholesterol Cod-Ana Labtest (Cat.76, Lagoa Santa, Brazil), HDL-c precipitant Labtest (Cat.13, Lagoa Santa, Brazil), TG Gpo-Ana, Glucose PAP Labtest (Lagoa Santa, Brazil), and LDL-c (calculated according to the Friedewald equation: $(\text{LDL-c}) = (\text{TG}) - (\text{HDL-c} + \text{TG}/5)$). Estimates of lipid peroxidation were quantified by spectrophotometric measure of formation of thiobarbituric-acid-reactive substances (TBARS) [24].

The AOPP was measured using a Cobas Mira Plus clinical chemistry analyzer, applying the technique described by Semba et al. [25]. The AOPP levels determined at this stage were used to establish whether this variable could influence the mortality of the riparian elders during the 5-year period included in this study.

Data mortality record collection

A 5-year prospective follow-up was performed to evaluate the survival rate in the study population. Official death records (dates and specific causes of death) for all deceased participants were obtained in Municipal Health Department of Maués City registration. The deaths were computed monthly, with the maximum survival period of 60 months (duration of the study), and the minimum of one month following the commencement of the study.

Statistical analyses

All statistical analyses were performed using the SPSS/PC statistical package, version 19.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA). The potential association between the AOPP levels and mortality during the 60-month follow-up was evaluated. To perform this analysis, the elders were initially

classified into three groups (lower, medium, and higher), according to the AOPP levels, as determined by percentile values distribution. The survival of elders with lower and higher AOPP levels (≥ 80 percentile) was compared by performing the survival analysis. Here, the Kaplan–Meier method was used, as this model is based on time and could follow the study participants over the 60-month study period, or until death. Potential effect of intervenient variables in the results obtained here (sex, age, chronic disease, polypharmacy, socioeconomic, cultural, lifestyle, and self-rated health) was determined by multivariate Cox proportional hazards method (backward Wald). All variables are presented as mean \pm SD (standard deviation) (for continuous variables) or number and percentage (for categorical variables). In all analyses, $p < 0.05$ was considered statistically significant.

Results

Of the 637 riparian elders included in the research in 2009, 540 (84.78%) were assessed for levels of AOPP and followed over a 5-year period in order to establish the mortality rate. The remaining 97 individuals were excluded from the analyses because of incomplete data that could compromise the results. Of the 540 elders who were followed during the subsequent 5-year period, 74 (13.7%) died and 466 (86.3%) survived. The AOPP levels were higher in the elders who died (46.27 ± 40.6 mmol/L) than in those that survived (36.79 ± 20.84 mmol/L) ($p = 0.002$). The possible influence of sex, age, daily medicine, and previous diagnosed morbidities on AOPP levels was also evaluated and was found not to affect the AOPP levels. Surprisingly, younger elders (≥ 60 –69 years) also presented higher AOPP levels (47.33 ± 19.71 mmol/mL) than older subjects (33.21 ± 25.70 mmol/L) ($p = 0.0001$).

The AOPP percentile distribution of riparian elders categorized by age and survival (Figure 1) was used to form two groups, comprising elders with low (AOPP-L < 60 mmol/L) and high AOPP levels (AOPP-H ≥ 60 mmol/L). The Kaplan–Meier survival curve shown in Figure 2 confirmed the association between the AOPP levels and elderly survival ($p = 0.034$). The means and standard errors for survival time in elders with low AOPP levels (< 60 mmol/L) was 49.61 ± 0.46 months, while for those with high levels (≥ 60 mmol/L) it was 46.27 ± 1.70 months.

The characteristic baselines and health indicators of the elders in the AOPP-L and AOPP-H groups were compared and the main results are presented in Table I and Figure 3. As expected, individuals in the AOPP-H group presented higher lipoperoxidation estimated by TBARS, compared with those in the AOPP-L group. However, the AOPP-H group also presented significantly lower triglyceride concentration. Despite the significant association between AOPP and triglyceride concentrations, the latter did not show significant association with riparian elderly survival ($p = 0.393$).

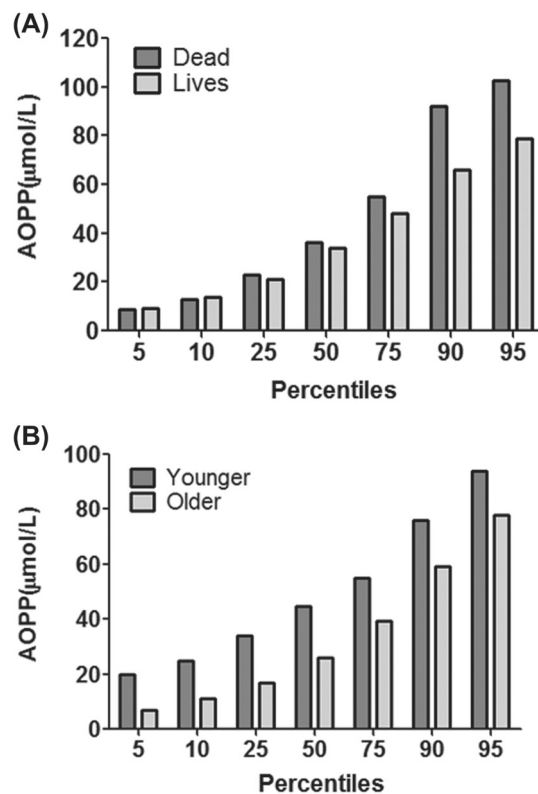


Figure 1. Percentiles distribution of AOPP levels between dead and living riverine elders (A) and between younger (60 < 70 years) and older (≥ 70 years) elders (B).

No association between AOPP polypharmacy and hospitalization in the last year was observed in the AOPP-H group. In relation to previous morbidities, we did not observe any association between AOPP levels and diseases, with exception of type 2 diabetes, which showed a tendency of association with elevated AOPP levels. However, the association between diabetes and AOPP-H was not significant. As smoking habit can be associated with high AOPP levels, the influence of this variable was also

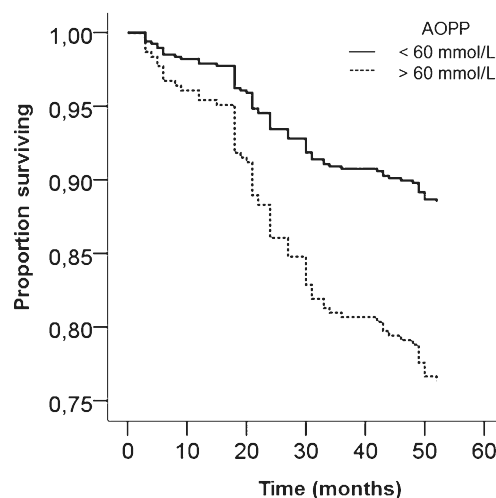


Figure 2. Kaplan–Meier survival curves for mortality of Amazon riverine elderly subjects with lower (< 60 mmol/L) and higher (> 60 mmol/L) AOPP.

Table I. Baseline characteristics among Amazonian riparian elderly with different advanced oxidative protein products (AOPP).

Variables	AOPP groups		<i>p</i>
	< 60 $\mu\text{mol/L}$ Mean \pm SD	> 60 $\mu\text{mol/L}$ Mean \pm SD	
Age (years)	72.7 \pm 7.8	69.7 \pm 7.6	0.003
BMI (Kg/m ²)	25.3 \pm 4.9	25.8 \pm 4.1	0.403
Waist circumference (cm)	88.1 \pm 13.9	87.6 \pm 16.9	0.769
SBP (mmHg)	129.0 \pm 28.1	131.2 \pm 20.1	0.543
DBP (mmHg)	72.9 \pm 15.0	75.4 \pm 10.5	0.090
Glucose (mg/dL)	120.9 \pm 47.5	123.1 \pm 40.9	0.718
Cholesterol total (mg/dL)	207.9 \pm 52.9	206.6 \pm 49.4	0.873
Triglycerides (mg/dL)	165.2 \pm 98.4	138.5 \pm 55.6	0.005
LDL-cholesterol (mg/dL)	142.0 \pm 49.4	154.6 \pm 48.5	0.097
HDL-cholesterol (mg/dL)	73.3 \pm 16.7	71.0 \pm 18.4	0.513
TBARS	21.0 \pm 8.9	24.1 \pm 11.9	0.011

SD = standard deviation; BMI = body mass index; SBP = systolic blood pressure; DBP = diastolic blood pressure. The groups were statically compared by Student *t* test.

evaluated. The smoking habit prevalence in sample analyzed was 11.9% (64). However, the AOPP levels between smokers and non-smokers were similar between the dead and living elderly subjects.

Multivariate Cox regression analysis was performed to establish whether the association between AOPP-H and elderly mortality could be influenced by some biological or health indicators. The results presented in Table II showed that—after adjusting to sex, age, type 2 diabetes, smoking habit, hypertension, CVD, other previous morbidities, polypharmacy, and hospitalization in the last year—the association between high AOPP levels and mortality remained significant. Moreover, we estimated that riparian elders with higher AOPP levels were twice as likely to die during the 5-year follow-up period as were their counterparts with lower AOPP levels.

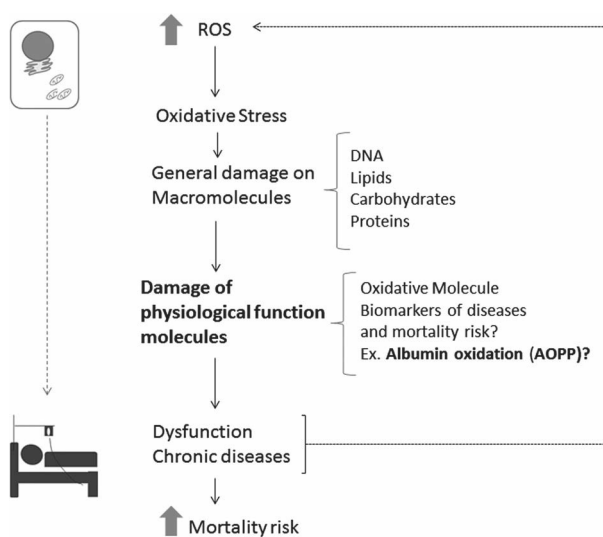


Figure 3. Comparison of chronic diseases prevalence in Amazon riverine elders categorized by lower (L = < 60 mmol/L) and higher (H = > 60 mmol/L) AOPP. The comparison was statistically performed using Student's *t*-test.

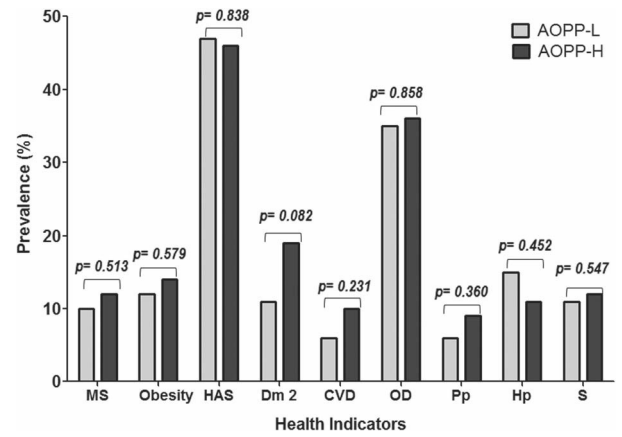


Figure 4. General model for explaining the potential relevance of AOPP as mortality biomarker in elderly subjects. The imbalance of oxidant and antioxidant molecules into the cells potentially causes oxidative stress by oxidation molecules such as DNA breakage, lipoperoxidation, and protein carbonylation. This condition increases the oxidation of some biological molecules such as albumin, increasing blood AOPP levels.

Considering that AOPP levels could be related to uncontrolled variables of metabolic diseases, such as hypertension, diabetes, and hypercholesterolemia, we performed a Pearson correlation analysis among AOPP and body mass index, waist circumference, SBP and DBP, glucose, cholesterol total, LDL-c, HDL-c, triglycerides, polypharmacy, and estimation of lipid peroxidation. The results of these analyses did not show any associations between AOPP levels and these variables; the only exception was TBARS, which was positively associated with this biomarker. However, the correlation was very low ($r^2 = 0.120$, $p = 0.006$).

Discussion

In the present study, we described a significant association between elevated AOPP levels and high mortality risk, based on a 5-year follow-up of a riparian elderly population. The extensive literature review conducted as a part

Table II. Multivariate Cox regression analysis to determine de influence biological and health indicator factors in the association between higher levels of advanced oxidized protein products (AOPPs) and 5-year riverine elderly mortality.

Variables	Wald	Risk	95% CI	<i>p</i>
AOPP (> 60 mmol/L)	5.818	2.122	1.243–3.937	0.007
Age	13.29	1.057	1.028–1.087	0.0001
Sex	0.123	1.103	0.684–1.724	0.725
Diabetes	0.262	1.216	0.574–2.576	0.609
Smoking habit	0.150	1.102	0.897–1.452	0.699
Hypertension	0.029	0.953	0.552–1.648	0.864
CVD	0.828	1.458	0.647–3.281	0.363
Other morbidities	0.002	1.10	0.617–1.656	0.967
Polypharmacy	1.763	0.861	0.90–1.074	0.184
Hospitalization in the last year	0.488	0.786	0.387–1.593	0.503

CVD = cardiovascular diseases;

of this study indicates that, to the best of our knowledge, this is the first attempt to describe the influence of AOPP levels on the elderly survival rates. However, several extant studies, including the investigation performed by Kregel et al. [26] suggested an association between high levels of serum protein carbonylation in moderate-to-severely disabled women (>65 years) and the 5-year mortality. The hazard ratio found by these authors after adjusting for confounder variables was 1.34 (CI95%:1.01–1.79). Although this hazard ratio is slightly smaller than that obtained in this work, it still corroborates the hypothesis that elevated protein oxidation levels could be an important biomarker of elderly mortality risk.

In fact, oxidative damage to proteins presents an important cascade effect in cell homeostasis, as it can lead to the loss of structural integrity and function [27]. Therefore, we consider that the results reported here have some biological plausibility, since albumin is the most abundant protein presenting pleiotropic effects. It plays a role in the transport of several molecules, including hormones and fatty acids, as well as in pH buffering and osmotic pressure maintenance. Generally, albumin is downregulated in inflammatory states and is an important biomarker of nutritional status [28]. Therefore, the oxidation of sulfhydryl groups (SH) in albumin can cause its depletion in blood, and this process can contribute to functional and structural disturbances [16]. For this reason, elevated AOPP levels can serve as a systemic oxidative marker of several chronic diseases and their complications. They can even be used to estimate mortality risk, as suggested by our data (Figure 4).

As previously noted, several prevalent diseases in elders have been associated with high AOPP levels, including cardiovascular disease (CVD), diabetes and subsequent complications, MS, and cancer [8–21]. Most studies attempting to establish the relationship between AOPP and various diseases followed case-control or cross-sectional design. However, literature review revealed some prospective studies describing the association between high AOPP levels and poor renal outcome of nephropathy [9], correlation with major adverse cardiac events during the 6-month follow-up period [12] and depressed smokers [18].

Our data showed an association between AOPP and 5-year mortality risk, independent of age, sex, medicine intake, and previous chronic diseases. Moreover, we failed to establish a correlation between AOPP levels and some biochemical and physiological markers of metabolic diseases. These results suggest that metabolic uncontrolled diseases are not the main cause of high AOPP levels and the subsequent mortality risk. Unfortunately, we did not measure renal and hepatic function biomarkers, as this could help us to elucidate the source of AOPP levels in the elders who died in the analyzed 5-year follow-up period.

On the other hand, as expected, the association between AOPP and age was inverse, whereby a greater number of younger subjects with higher AOPP levels died compared with their older counterparts. This result suggests that

elevated AOPP levels (≥ 60 mmol/L) are not a characteristic associated with aging, but rather possibly represent a dysfunction or the presence of a disease (even if undiagnosed). Despite the uncontrolled increase in the protein carbonyl content, such as AGEs and AOPP—which are considered a hallmark of cellular and organismal aging—in most cases, the proteins targeted by these deleterious consequences have not yet been clearly identified [3,30]. An important question that emerges from results would impact antioxidant and antioxidant enzymes concentration in the blood on AOPP levels. However, in the present study was not possible to analyze these variables in the investigation. Therefore, an additional investigation about the potential association between antioxidant levels and markers of AOPP study should be conducted. Thus, it is important to note that our study focused on a riparian population with limited access to health care and modern technologies. This provided us an opportunity to evaluate the impact of some oxidative biomarkers on survival of elderly people that are characterized by a reduced number of interventional variables.

On the other hand, it is also important to point out some methodological constraints affecting the present study, such as lack of information about mortality causes. Unfortunately, the limited use of modern medical services by the studied population hindered establishing the cause of mortality in most cases. Another limitation is the low number of elders who died in the period analyzed, decreasing statistical power of the results. Thus, following of these elders for a longer period will help us elucidate if some previous dysfunction or morbidity that was not statistically associated with the deaths recorded in this study could contribute to the risk of mortality in this population. Other major limitation of our study is the difficulty of holding more complete diagnostics on the physiological status and health of the elders for logistical reasons. Maués is a place of difficult access because it is located in the Amazon rainforest. For this reason, the potential variables associated with high AOPP levels in this population need to be investigated from further studies.

However, we believe that these limitations did not invalidate the results reported here. Perhaps, similar investigations in other elderly populations, aiming to understand the role of AOPP in the participants' survival, could help expand our knowledge on this important issue.

Despite the limiting methodological factors of the study, based on our findings, we suggest that elevated AOPP levels can be used in predicting elderly mortality risk.

Acknowledgments

We are grateful to the Maués governmental team, as well as the professionals of UnATI/UEA, for assisting us in the data collection. We are also grateful to Prefeitura Municipal de Maués and Amazonas ESF-SUS. This study was supported by grants and fellowships from Fundação de Amparo a Pesquisa do Amazonas (FAPEAM), Conselho

Nacional de Pesquisa e Desenvolvimento (CNPq), Coordenação de Pessoal de Ensino Superior (CAPES), and Fundação de Amparo a Pesquisa do Rio Grande do Sul (FAPERGS).

Declaration of interest

The authors report no declarations of interest. The authors alone are responsible for the content and writing of the article.

References

- [1] Höhn A, Jung T, Grune T. Pathophysiological importance of aggregated damaged proteins. *Free Radic Biol Med* 2014;12:70–89.
- [2] Labunskyy VM, Gladyshev VN. Role of reactive oxygen species-mediated signaling in aging. *Antioxid Redox Signal* 2013;19:1362–1372.
- [3] Prasad C, Imrhan V, Marotta F, Juma S, Vijayagopal P. Lifestyle and advanced glycation end products (ages) burden: its relevance to healthy aging. *Aging Dis* 2014;5:212–217.
- [4] Prasad K. Low levels of serum soluble receptors for advanced glycation end products, biomarkers for disease state: myth or reality. *Int J Angiol* 2014;23:11–16.
- [5] Capeillère-Blandin C, Gausson V, Descamps-Latscha B, Witko-Sarsat V. Biochemical and spectrophotometric significance of advanced oxidized protein products. *Biochim Biophys Acta* 2004;1689:91–102.
- [6] Bochi GV, Torbitz VD, Cargnin LP, de Carvalho JA, Gomes P, Moresco RN. An alternative pathway through the fenton reaction for the formation of advanced oxidation protein products, a new class of inflammatory mediators. *Inflammation* 2014;37:512–521.
- [7] Mera K, Anraku M, Kitamura K, Nakajou K, Maruyama T, Otagiri M. The structure and function of oxidized albumin in hemodialysis patients: its role in elevated oxidative stress via neutrophil burst. *Biochem Biophys Res Commun* 2005;334:1322–1328.
- [8] Witko-Sarsat V, Nguyen-Khoa T, Jungers P, Drüeke TB, Descamps-Latscha B. Advanced oxidation protein products as a novel molecular basis of oxidative stress in uraemia. *Nephrol Dial Transplant* 1999;14:76–78.
- [9] Descamps-Latscha B, Witko-Sarsat V, Nguyen-Khoa T, Nguyen AT, Gausson V, Mothu N, et al. Early prediction of IgA nephropathy progression: proteinuria and AOPP are strong prognostic markers. *Kidney Int* 2004;66:1606–1612.
- [10] Kaneda H, Taguchi J, Ogasawara K, Aizawa T, Ohno M. Increased level of advanced oxidation protein products in patients with coronary artery disease. *Atherosclerosis* 2002; 62:221–225.
- [11] Descamps-Latscha B, Witko-Sarsat V, Nguyen-Khoa T, Nguyen AT, Gausson V, Mothu N, et al. Advanced oxidation protein products as risk factors for atherosclerotic cardiovascular events in nondiabetic predialysis patients. *Am J Kidney Dis* 2005;45:39–47.
- [12] Feng Y, Shen C, Ma G, Wang J, Chen Z, Dai Q, et al. Prolonged pain to hospital time is associated with increased plasma advanced oxidation protein products and poor prognosis in patients with percutaneous coronary intervention for ST-elevation myocardial infarction. *Heart Vessels* 2010; 25:374–378.
- [13] Barsotti A, Fabbi P, Fedele M, Garibaldi S, Balbi M, Bezante GP, et al. Role of advanced oxidation protein products and Thiol ratio in patients with acute coronary syndromes. *Clin Biochem* 2011;44:605–611.
- [14] Korkmaz GG, Altunoglu E, Civelek S, Sozer V, Erdenen F, Tabak O, Uzun H. The association of oxidative stress markers with conventional risk factors in the metabolic syndrome. *Metabolism* 2013;62:828–835.
- [15] Venturini D, Simão AN, Sripes NA, Bahls LD, Melo PA, Belinetti FM, et al. Evaluation of oxidative stress in overweight subjects with or without metabolic syndrome. *Obesity (Silver Spring)* 2012;20:2361–2366.
- [16] Piwowar A, Knapik-Kordecka M, Warwas M. Comparison of the usefulness of plasma levels of oxidatively modified forms of albumin in estimating kidney dysfunction in diabetic patients. *Clin Invest Med* 2010;33:E109.
- [17] Zurawska-Plaksej E, Grzebyk E, Marciniak D, Szymańska-Chabowska A, Piwowar A. Oxidatively modified forms of albumin in patients with risk factors of metabolic syndrome. *J Endocrinol Invest.* 2014;37:819–827.
- [18] Vargas HO, Nunes SO, de Castro MR, Vargas MM, Barbosa DS, Bortolasci CC, et al. Oxidative stress and inflammatory markers are associated with depression and nicotine dependence. *Neurosci Lett* 2013;544:136–140.
- [19] Avinash SS, Anitha M, Vinodchandran, Rao GM, Sudha K, Shetty BV. Advanced oxidation protein products and total antioxidant activity in colorectal carcinoma. *Indian J Physiol Pharmacol* 2009;53:370–374.
- [20] Kilic N, Yavuz Taslipinar M, Guney Y, Tekin E, Onuk E. An investigation into the serum thioredoxin, superoxide dismutase, malondialdehyde, and advanced oxidation protein products in patients with breast cancer. *Ann Surg Oncol* 2014 Jun;21:4139–4143.
- [21] Maia Ribeiro EA, Ribeiro EE, Viegas K, Teixeira F, dos Santos Montagner GF, Mota KM, et al. Functional, balance and health determinants of falls in a free living community Amazon riparian elderly. *Arch Gerontol Geriatr* 2013;56:350–357.
- [22] Costa Krewer C, Ribeiro EE, Ribeiro EA, Moresco RN, Ugalde Marques da Rocha MI, Santos Montagner GF, et al. Habitual intake of guaraná and metabolic morbidities: an epidemiological study of an elderly amazonian population. *Phytother Res* 2011;25:1367–1374.
- [23] Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem* 1979;95:351–358.
- [24] Selmeçi L, Seres L, Antal M, Lukács J, Regöly-Mérei A, Acsády G. Advanced oxidation protein products (AOPP) for monitoring oxidative stress in critically ill patients: a simple, fast and inexpensive automated technique. *Clin Chem Lab Med* 2005;43:294–297.
- [25] Semba RD, Ferrucci L, Sun K, Walston J, Varadhan R, Guralnik JM, et al. Oxidative stress is associated with greater mortality in older women living in the community. *J Am Geriatr Soc* 2007;55:1421–1425.
- [26] Kregel KC, Zhang HJ. An integrated view of oxidative stress in aging: Basic mechanisms, functional effects and pathological conditions. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2007;292:R18–R36.
- [27] “Albumin: analyte monograph”. 2013. Association for Clinical Biochemistry and Laboratory Medicine. Retrieved 23 June 2013. <http://www.cyclopaedia.info/wiki/Human-Serum-Albumin>
- [28] Baraibar MA, Ladouce R, Friguet B. Proteomic quantification and identification of carbonylated proteins upon oxidative stress and during cellular aging. *J Proteomics* 2013;92: 63–70.

Artigo 2:

SILVA, T. O. et al. Association between t102c 5-ht2a receptor gene polymorphism and 5-year mortality risk among brazilian amazon riparian elderly population. **American Journal of Human Biology**. 2017. (CARTA DE ACEITE EM ANEXO)

ASSOCIATION BETWEEN T102C 5-HT_{2A} RECEPTOR GENE POLYMORPHISM AND 5-YEAR MORTALITY RISK AMONG BRAZILIAN AMAZON RIPARIAN ELDERLY POPULATION

Tális O. Silva¹, Ivo Jung², Alexis Trott^{3*}, Cláudia G. Bica³, Jeferson N. Casarin⁴, Paola C. Fortuna⁴, Euler E. Ribeiro⁵, Fernanda D. de Assis⁶, Guilherme C. Figueira⁶, Fernanda Barbisan², Maria Fernanda Manica-Cattani¹, Beatriz S. R. Bonadiman², Lucien J. Houenou⁷, Pedro Antônio S. do Prado-Lima⁶, Ivana B. M. da Cruz^{1,2,6}

¹ Programa de Pós-Graduação em Bioquímica Toxicológica, Centro de Ciências Naturais e Exatas, Universidade Federal de Santa Maria, RS, Brasil.

² Programa de Pós-Graduação em Farmacologia, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Santa Maria, RS, Brasil.

³ Programa de Pós-Graduação em Patologia, Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre, RS, Brasil.

⁴ Laboratory of Molecular Aspects Associated with Genetic Diseases, University of Western Santa Catarina, Unoesc, Brazil

⁵ Universidade do Estado do Amazonas, Manaus, AM, Brasil.

⁶ Laboratório de Biogenômica, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Santa Maria, RS, Brasil.

⁷ Biotechnology Department, Forsyth Technical Community College, 2100 Silas Creek Parkway, Winston-Salem, NC 27103, USA.

*Corresponding author: Dr. Alexis Trott, Ph.D., Rua Sarmiento Leite 245, Centro Histórico, UFCSPA, Porto Alegre-RS, Brazil. Zip code: 90050-170. Phone: 55-51-33038760, Email:alexistrott@hotmail.com

Running title: 5-HT2A receptor gene and human lifespan

Authors Contribution

Tális O. Silva – Mainly responsible for execution of study, writing the manuscript.

Ivo Jung – Co-responsible for execution of study, data collection, writing the manuscript.

Alexis Trott – standardization of t-HT2A genotyping, writing the manuscript, corresponding author.

Claudia Bica – data collection.

Jefferson Casarin- genotyping, databank organization.

Paola Fortuna – genotyping, databank organization.

Maria Fernanda Manica-Cattani – data collection in Maués city –Amazonas.

Euler Ribeiro- General coordinator of Elderly RainForest Project.

Beatriz Bonadiman – Genotyping, databank organization.

Fernanda Barbisan- Population data collection Maués city –Amazonas.

Lucien Houenou – Review of methodological design, statistical analysis, English editing manuscript.

Pedro Antonio do Prado-Lima – Coordinator of elderly clinical research data, responsible to study design.

Ivana da Cruz – Scientific coordinator of Elderly Rainforest Project, responsible for study design and statistical analysis.

ABSTRACT

Objective. Serotonin (5-HT) is a pleiotropic molecule that exerts several functions on brain and peripheral tissues via different receptors. The gene for 5-HT_{2A} receptor shows some variations, including T102C polymorphism, that have been associated with increased risk of neuropsychiatric and vascular disorders. However, the potential impact of 5-HT_{2A} imbalance caused by genetic variations on human lifespan was not yet established.

Methods. We performed a prospective study involving an Amazon riparian elderly free-living population in Maués city, Brazil, with a 5-year follow-up. Out of a cohort of 637 subjects selected in July 2009, we genotyped 471 individuals, including 209 males (44.4%) and 262 females (55.6%), all averaging 72.3 ± 7.8 years of age (ranging from 60 to 100 years).

Results. The T102C-SNP genotypic frequencies were 14.0% of TT, 28.0% of CC and 58.0% of CT. From 80 elderly who died during the period investigated we observed significantly ($p=0.005$) higher numbers of TT-carriers (27.3%) and CC carriers (21.2%), compared to heterozygous, CT, carriers (12.5%). Cox-regression analysis showed that association between T102C-SNP and elderly survival was independent of age, sex and other health variables.

Conclusions. Our findings strongly suggest that imbalance in 5-HT_{2A} increases the mortality risk for the elderly population. The results suggest that 5-HT_{2A} genetic imbalance may cause significant disturbances that lead to an increased susceptibility to death for individuals who are over 60 years of age

Key Words

Longevity; Chronic-degenerative diseases; Mortality; 5-HT_{2A} receptor gene; Human lifespan

1. INTRODUCTION

Similar to many regulatory molecules, serotonin or 5-hydroxytryptamine (5-HT) exerts pleiotropic functions in the body (Marston et al., 2011). These functions include neurotransmission related to appetite, cognition perception, and mood. In addition, serotonin has important actions on some peripheral tissues such as platelet aggregation, smooth muscle contraction and intestinal motility (Kawai and Rosen, 2010; Seyedabad et al., 2014). The extensive functional role of serotonin is mediated by several 5-HT receptor subtypes that are encoded by distinct nuclear genes (McCorvy and Roth, 2015). Reduction of serotonin levels as well as expression of several 5-HT_{2A} receptors occurs during the aging process (Mattson et al., 2004). Decreases in 5-HT_{2A} receptors have been associated with some chronic age-related diseases such as dementia, osteoporosis, gastrointestinal disorders and immune dysfunctions. Serotonin is an important molecule and evidence showed that age-related changes in serotonin systems are important risk factors to several dysfunctions and morbidities, including cardiovascular diseases (Fidalgo et al., 2013). Moreover, aging-related decline in serotonin function has been associated with change in sleep, sexual behavior and mood. Most of serotonin impact on age involves changes in its receptors, including gene and protein expression, as well as binding affinity of the 5-HT_{2A} receptor (Hoekzema et al., 2011).

Therefore, 5-HT₂ receptors are of significant clinical interest because of their potential involvement in mediating the effects of serotonin (Fidalgo et al., 2013). However, whether serotonin and 5-HT_{2A} receptors play a role in human lifespan or longevity is still unknown (Fidalgo et al., 2013).

A major difficulty in assessing the impact of serotonin on human longevity may be due to the broad and dual actions of several of its receptors on body functions. This is the case for 5-HT_{2A} receptor, an important G protein-coupled receptor that mediates the effects of 5-HT in brain, mainly in the cerebral cortex, basal ganglia, hippocampus, thalamus, cerebellum and hypothalamus. 5-HT_{2A} is also peripherally distributed and has been implicated in several physiological functions, including vascular smooth muscle contraction, extravascular smooth muscle contraction and platelet aggregation; the latter being directly associated with vascular disorders. Therefore, 5-HT_{2A} antagonists have been used to treat certain cardiovascular diseases (Nagatomo et al., 2004). On the other hand, the 5-HT_{2A} that is highly expressed in the prefrontal

cortex area plays an important role on cognitive regulation of emotion and its dysfunction has been implicated in many psychiatric disorders including schizophrenia, mood, anxiety, obsessive-compulsive and eating disorders. 5-HT_{2A} receptor dysfunction is also implicated in Alzheimer disease and psychosis associated with Parkinson's disease (Salmon, 2007; Berger et al., 2009; Aznar and Klein, 2013; Mestre et al., 2013).

One approach to investigate the impact of serotonin with altered function on human lifespan involves the analysis of the polymorphism of the 5-HT_{2A} receptor gene, which produces three genotypes: TT, CC and TC. Previous studies have described association between CC genotype, that shows 20% less receptor density on cell membranes, and neuropsychiatric disorders such as schizophrenia (Vaquero-Lorenzo et al., 2006; Ni et al., 2013), psychotic symptoms in Alzheimer's patients (Fehér et al., 2013), and with alcohol and tobacco addiction (Jakubczyk et al., 2012; Wrzosek et al., 2012; Prado-Lima et al., 2004; Ramos-Neto et al., 2014).

Dysfunctions of the 5-HT_{2A} receptor also include brain diseases such as migraine headaches, anxiety, and mental depression, (Fidalgo et al., 2013) as well as cardiovascular diseases related to platelet aggregation and abnormal vascular smooth muscle cell physiology (Machida et al., 2013). In the vascular system, serotonin induces proliferation and migration via 5-HT_{2A} receptors activation and causes both enhancement of prostaglandin I₂ production and reduction of nitric oxide (NO) by suppressing inducible NO synthase (Machida et al., 2013). In a recent study, Lairez et al. (2013) showed that a selective blockade of 5-HT_{2A} receptors prevented the development of cardiac hypertrophy in mice. Another investigation by Nelson et al. (2012) suggested that both 5HT-2A and 5HT-2B receptors contribute to serotonin-induced vascular dysfunction in diabetes.

Due to their relevance to nervous and cardiovascular diseases, 5-HT_{2A} receptors have been targeted for the development of pharmacological drugs, including selective serotonin reuptake inhibitors (SSRIs), to treat some psychiatric disorders such as depression. However, epidemiological evidences suggest that the use of these drugs can cause important physiological alterations in bone, thereby increasing the risk of fracture (Eom et al., 2012).

Considering specifically the T102C-SNP, some investigations described relationship between CC genotype or C allele and schizophrenia (Vaquero-Lorenzo et al., 2006; Ni et al., 2013), suicidal behavior (González-Castro et al., 2013), alcohol dependence, impulsivity of alcohol dependent-patients (Jakubczyk et al., 2012; Wrzosek et al., 2012), and relapse after alcohol dependency treatment (Jakubczyk et al., 2012). Associations between CC genotype and

smoking (Prado-Lima et al., 2004) and with nicotine dependence level (Ramos-Neto et al., 2014), were also reported. The CC genotype was reported to be associated with Alzheimer's disease (Fehér et al., 2013) and the occurrence of hallucinations, delusions, psychosis and aberrant motor behavior of Alzheimer patients (Pritchard et al., 2008). A link between C allele or CC genotype with metabolic disturbances was also previously reported. Choi et al. (2005) studied serum lipid profiles of 646 Koreans subjects carrying different T102C-SNP genotypes and found a strong correlation between CC genotype and lower levels of total cholesterol and HDL-cholesterol than in subjects carrying the TT or CT genotype.

By contrast, the TT genotype has been associated with some common disorders in elderly subjects such as urinary incontinence (Schwanke et al., 2007; Noronha et al., 2010). Interaction between T allele of T10C-SNP and endothelin-1 variant with hypertension in a Japanese sample was also described by Yamamoto et al. (2006) as well as association between TT genotype and non-fatal acute myocardial infarction (Yamada et al., 2000). Other studies have described an association between TT genotype and non-fatal acute myocardial infarction (Yamada et al., 2000), urinary incontinence (Schwanke et al., 2007; Noronha et al., 2009) or hypertension (Yamamoto et al., 2006). Irrespective of phenotypes, individuals with the allele T of the polymorphism of 5HT2A gene showed greater regional brain volumes in the left inferior temporal and left inferior occipital gyri in a study on patients with recent onset schizophrenia, compared to healthy control subjects (Vijayakumari et al., 2015).

Moreover, Jobim et al. (2008) investigated the genotype distribution in three age groups and showed a high frequency of TT in people between 45-64 years of age. In addition, a consistent increase in CC frequency was observed in elderly subjects (> 65 years old), when compared to younger age groups.

However, whether serotonin 5-HT2A receptor dysfunction has any impact on human lifespan is still not clear. More specifically, when considering T102C-SNP, the genotype that increases the susceptibility and the risk of death in the elderly is not known. Is it CC type that is associated with neurological disorders or TT that is linked to cardiovascular and peripheral dysfunctions such as urinary incontinence? To address this question, we performed a longitudinal investigation in a partially isolated riparian elderly human population living in Maués City, located in the Amazon Rainforest region of Brazil that is accessible only by boat or plane.

2. MATERIALS AND METHODS

2.1 SAMPLES AND DATA COLLECTION

To evaluate the potential impact of T102C-SNP on human lifespan, we analyzed an Amazon riparian elderly population living in Maués City, located in Amazon Rainforest Region, Brazil. This city is partially isolated due to a limited accessibility that reduces the use of specialized health services and advanced medical treatments. The investigation described here is part of a project previously approved by the Ethical Committee of the University of Amazonas State. Details of study were previously published by Maia-Ribeiro et al (2012). Briefly, an epidemiological study was performed in order to analyze health and functional fitness factors in the riparian elderly assisted by the Family Health Program (FHP) developed by the Brazilian Health Ministry in the Maués-AM. This city was chosen because it is geographically located in the middle of the Amazon region being constituted by Riverine population living in a little urban area and spread in more than 170 riverbanks communities. The research program was started in 2009, when this city had 1% of its population over 80 years of age, whereas most cities of Amazonas State had less than 0.5% of oldest population (> 80 years). Moreover, in Maués, 92% of population was included in the FHP.

In ethnical terms, besides the Sateré-Maués natives who first colonized Maués's area, the region is currently inhabited by riverine people named Caboclos. Caboclos are a Portuguese-speaking mestizo people thought of as a 'quasi-ethnic' group and recognized as the historical peasantry of the Amazon (Antoinette, 2006). The group known as peasants is defined in a variety of ways and in the Brazilian Amazon region, peasants and peasantry are inherently problematic terms. The Caboclo culture can be traced back about 300 years, originating as a disenfranchised Native Amerindian population. This group occupied the depopulated floodplains after the ravages of disease brought on by the arrival of Europeans. The native people mixed with European settlers, primarily Portuguese, and adopted a form of social organization that reflected their Amerindian and European ancestors (Krieger et al., 1965). Locally, Caboclos are referred to as riparian, riverine or river-side dwellers. Genetically, the Caboclos living in Maués probably have a similar ethnic contribution as other western riverine Amazonian populations (Ferreira et al., 2002). The genetic contribution frequencies of Amerindians, Europeans and Africans to the ethnic composition of the studied populations were 0.44 ± 0.064 , 0.35 ± 0.069 and 0.21 ± 0.046 , respectively (Ferreira et al., 2002).

Our investigation began in 2009 when Maués total population was estimated at 45,285 people, including 21,094 living in a small urban area and the remaining 24,190 living in about 175 communities distributed along river affluents. The elderly (> 60 years old) represented about 6.49% (n=2,939) of the total population. An initial cross-sectional investigation was performed that included 1805 subjects (male/female = 937/869) representing 61% of Maués' s elderly population. This investigation estimated the prevalence of main chronic degenerative diseases in this population. This initial evaluation was performed using a structured interview that collected information about demographic variables (i.e., education, income, marital status, occupation), lifestyle (e.g., smoking habits), CVC risk factors (i.e., hypertension, type 2 diabetes, obesity, dyslipidemia and metabolic syndrome), history of previous chronic diseases (including CVC morbidities and hospitalization within the preceding year), and use and quantity of daily medication. Additionally, anthropometric measures were collected that include body mass index, (BMI in Kg/m²) and waist circumference, all of which were used to diagnosed obesity in the sample population. The sample consisted in elderly living in the urban and riverine/rural area. Since the access to Maués samples is very difficult to researchers, a complementary investigation was performed using a sub-sample of elderly living in urban area. In this second expedition a blood sample collection were conducted. Considering an estimated frequency of minor allele of 15%, the 95% confidence interval (CI) and 3% estimation of error was calculated the inclusion, at least of 459 subjects to genotype analysis. However, as Maués is hard to access and the blood samples needed to be transported to the Brazilian Southern region for analysis, we only examined 637 subjects. Moreover, due the logistics of blood sample transport from the Amazon Rainforest to the Laboratory that performed the genetic polymorphism analysis, it was only possible to genotype just 471 elderly subjects.

2.2 BIOCHEMICAL AND GENE POLYMORPHISM ANALYSIS

To perform the biochemical and genetics analysis, peripheral blood was collected by venipuncture (20 mL). The blood samples were collected in lithium-heparin and EDTA and were subsequently frozen and stored at -4 °C. Blood tests were performed and the results were compared among elderly carriers of different T102C-SNP genotypes. These tests include: (1) glucose, total cholesterol, HDL-c, LDL-c, and triglycerides; (2) total cholesterol, HDL-c, TG, uric acid and glucose (determined by enzymatic colorimetric methods using commercial kits); (3) total cholesterol Cod-Ana Labtest (Cat. 76, Lagoa Santa, Brazil), HDL-c precipitant Labtest (Cat. 13, Lagoa Santa, Brazil), TG Gpo-Ana, Glucose PAP Labtest (Lagoa Santa, Brazil). LDL-c was determined according to the Friedwald equation, i.e., $(LDL-c) = (TG) - (HDL-c + TG/5)$. From these results, subjects were diagnosed with hypercholesterolemia (total cholesterol > 240 mg/dL); hypertriglyceridemia (triglycerides > 150 mg/dL) and with lower HDL-cholesterol levels (HDL < 45 mg/mL).

Blood samples were collected on EDTA, transferred to the Biogenomic Lab at the University Federal of Santa Maria, RS, Brazil, and used to determine T102C-SNPs (Prado-Lima et al., 2004). Genotyping of the T102C polymorphism was done using Thermo Scientific Phusion Blood Direct PCR Kit, designed to perform PCR directly from whole blood with no prior DNA extraction or sample preparation, and was carried out in a 25- μ l volume, containing 100 ng of genomic DNA and 10 pmol of each primer (5'-TGTGCTACAAGTTCTGGCTT-3') and (5'-GTGCAGTTTTTCTCTAGGG-3') (Choi et al., 2005). The PCR products were digested with HpaII restriction enzyme. The 102T allele PCR products remained uncut, with a single DNA band of 342 bp, whereas the 102C allele showed two bands of 216 bp and 126 bp.

2.3 MORTALITY DATA COLLECTION

From 5-year follow-up, the project started to evaluate potential environmental, biochemical and genetic variables associated with riparian elderly mortality. Therefore, the data on different T102C-SNP genotypes were compared with the mortality information from official

death records (dates and specific causes of death). The mortality data were obtained from the Municipal Health Department of Maués City registry. The deaths were computed monthly, beginning one month after the start of the study and over a period of 60 months (duration of the study).

2.4 STATISTICAL ANALYSIS

All statistical analyses were performed using the SPSS/PC statistical package, version 19.0 (SPSS, Inc., IL, USA). An initial analysis was performed to evaluate the potential association between different T102C-SNP genotypes, age and other health and lifestyle variables using One-way analysis of variance followed by Bonferroni post hoc test. This post hoc analysis admits differences of sample number among the different genotypes, and has been used in previous genetic epidemiological studies such as Prado-Lima et al (2006), Manica-Cattani et al. (2010), Duarte et al. (2016). Quantitative variables, such as age, that were significantly different among genotypes were categorized using the values found in 75th percentiles. The categorization was performed in order to estimate the risk or protective value (95% of confidence interval) associated with each genotype and/or allele. Since case-control studies, comparing for example the genotype frequencies between young adults and elderly groups can have several epidemiological and genetic population biases, to evaluate if the T102C-5HT-2A is related with survival, a second analysis was performed in the similar way as previously described by da Cruz et al (2003). In this analysis, the mortality of riparian elderly carrying different T102C-SNP genotypes was examined during the 60-month follow-up using the Kaplan-Meier method. From these results, we determined the genotype combination associated with increased mortality risk (TT x CC and TC; CC x TT and TC or CT x CC and TT). We also examined the potential effects of different intervening variables (sex, age, chronic disease, polypharmacy, socioeconomic and cultural factors, lifestyle and self-rated health) on the mortality results using a multivariate Cox proportional hazards method (Backward Wald). To perform this analysis variables that present in univariate tests p value < 0.20 were included in the multivariate equation. Considering that number of dead was low, more than multivariate analysis was performed including genotype, age and 2 additional predictors. All data are presented as means \pm SD (standard deviation) for continuous variables, or as numbers and

percentages, for categorical variables. In all analyses, $p < 0.05$ was used to indicate statistical significance.

3. RESULTS

From the 637 people included in the 2009 cohort, it was possible to analyze the T102C-SNP genotype of 471 elderly (sub-group) subjects that represent 74% of the initial sample. Of this sub-group, 442 (or 93.8%) people were born in Maués or neighboring communities; of these, 209 (44.4%) were males and 262 (55.6%) females. The mean age of the 471 elderly test subjects was 72.3 ± 7.8 years (ranging from 60 to 100 years). The T102C-SNP genotypic frequencies were 14.0% TT ($n=66$), 28.0% CC ($n=132$) and 58.0% CT ($n=273$). The allelic frequencies were $C= 0.577$ and $T= 0.423$. The test sample was not in Hardy-Weinberg equilibrium since it showed an excess of heterozygous subjects (frequency expected = 230.1 vs frequency observed = 273), compared to homozygous subjects. The genotypic frequencies were not influenced by sex/gender.

Comparison among characteristics baselines are presented in Tables 1 and 2. As shown in Table 2, the characteristic baselines comparison among subjects carrying different T102C-SNP genotypes showed similar health and lifespan patterns at moment of inclusion in the study (July 2009), except their ages. The C allele carrier's presented higher mean age than TT subjects ($p=0.021$

Table 2: Characteristic baselines comparison among riparian elderly carrier's different T102C-SNP genotypes

Variables	TT % (n)	CC % (n)	CT % (n)	<i>p</i>			
Gender (%)							
Males	49.2 (32)	45.1 (59)	44.9 (122)	0.979			
Females	50.8 (34)	54.9 (73)	55.1 (150)				
Age (%)							
60 - 75 years	57.8 (38)	34.1 (45)	31.1 (85)	0.001			
≥ 75 years	42.4 (28)	65.9 (87)	68.9 (188)				
Hypertension (%)	51.5 (34)	42.4 (56)	49.1 (134)	0.356			
Diabetes mellitus 2 (%)	18.2 (12)	10.4 (14)	13.2 (36)	0.331			
Obesity (≥ 30 kg/m ²) (%)	13.6 (9)	8.3 (11)	12.5 (34)	0.398			
Metabolic syndrome (%)	16.7 (11)	16.8 (22)	12.2 (33)	0.36			
Hypercholesterolemia (%)	20 (13)	23.6 (31)	24.3 (66)	0.798			
Hypertriglyceridemia (%)	50.9 (34)	50 (66)	42.4 (115)	0.24			
HDL ≤ 45 mg/dL (%)	2.2 (1)	7.6 (10)	8.7 (24)	0.334			
Cardiovascular diseases (%)	9.1 (6)	5.3 (7)	9.2 (25)	0.389			
Hospitalization. Last 6 months (%)	13.6 (9)	16.7 (22)	12.9 (35)	0.593			
Daily medicine intake (%)	50 (33)	49.2 (65)	53.1 (145)	0.736			
Smoking habit (%)	10.6 (7)	12.1 (16)	12.5 (34)	0.918			
Regular exercise (%)	42.8 (28)	40.9 (54)	40.7 (111)	0.966			
Cholesterol total (mg/dL)	199.9 ± 48.4	186.3 ± 214.4	204.5 ± 200.0	217.9 ± 210.7 ± 56.4	200.8 ± 213.5	0.578	
Triglycerides (mg/dL)	158.4 ± 69.2	145.7 ± 197.76	165.4 ± 82.2	147.4 ± 180.6	161.9 ± 107.4	154.4 ± 178.0	0.785
LDL-cholesterol (mg/dL)	136.8 ± 40.9	115.4 ± 143.8	143.5 ± 47.3	113.7 ± 131.9	145.4 ± 51.6	127.7 ± 141.1	0.134
HDL-cholesterol (mg/dL)	48.5 ± 32.4	66.4 ± 77.5	51.6 ± 37.6	69.3 ± 76.4	49.9 ± 44.2	69.2 ± 74.4	0.896

SD= standard deviation; BMI = body mass index; SBP = systolic blood pressure; DBP = diastolic blood pressure. Genotypes groups were compared by Two-Way ANOVA followed by *post hoc* Bonferroni test. * = significant difference at $p < 0.05$ in relation to other genotypes.

Eighty elderly subjects died during the period of July 2009 to July 2014. The T102C-SNP genotype frequencies were calculated between living and deceased subjects and we observed significantly ($p=0.005$) higher numbers of deceased TT-carriers (27.3%) and CC-carriers (21.2%), when compared to heterozygous CT-carriers (12.5%). The relative risk to TT and CC-carriers who died was 2.127 times higher (95% CI = 1.306-3.464) than CT-carrying elderly subjects. The Kaplan-Meier survival curve (Fig. 1) confirmed that subjects with TT and CC were more likely to die than subjects with CT. The mean survival time for each genotype was 50.4 ± 2.0 months for TT, 51.7 ± 1.5 months for CC and 55 ± 1.0 months for CT. The survival of the heterozygous CT was significantly higher ($p=0.007$) than both the homozygous TT and CC (Figure 1).

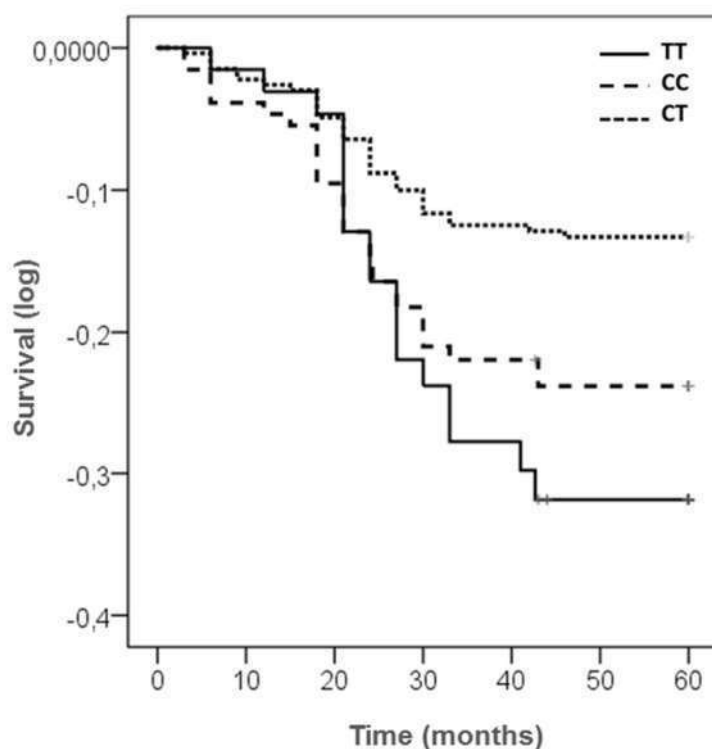


Figure 1: Kaplan-Meier survival curve for mortality of Amazon riverine elderly subjects carrying different T102C-SNP genotypes of the 5-HT_{2A} gene receptor: TT, CC and TC. The survival time of CT-carriers was significantly ($p=0.007$) higher than that of homozygous carriers (TT and CC). Vertical scale logarithms (0, -0.1, -0.2, -0.3, and -0.4) correspond to non-constant declines in the estimated percent surviving (100%, 90%, 82%, 74% and 67%), respectively.

Considering different T102C-genotypes, in the group among 60-69 years, was: TT = 10.8%, CC= 9.3% and CT=5.7%; In the 70-79 years dead distribution was: TT=19.0%, CC=16.7% and CT= 13.3%. In the group > 80 years-old, dead distribution TT= 33.3%, CC= 35.5% and CT= 28.6%. A complementary survival analysis was performed considering the three different age group (Figure 2). As expected a higher frequency of dead in the oldest-old group was observed in all elderly carrier's all T109C-genotypes. However, CT-group showed lower frequency of mortality in the group with 70-79 years old.

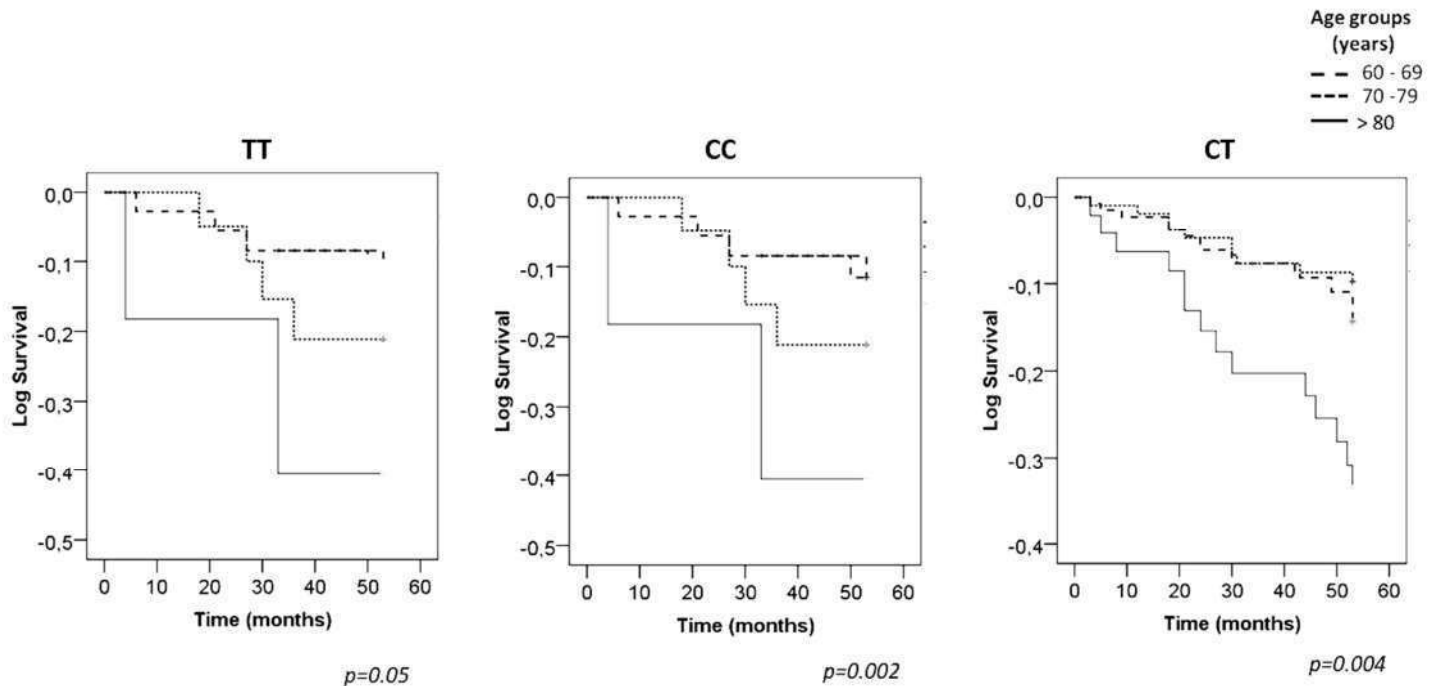


Figure 2: Kaplan-Meier survival curve for mortality of Amazon riverine elderly subjects with different age groups considering each T102C-SNP genotypes of the 5-HT2A gene receptor: TT, CC and TC. In all groups, higher frequency of oldest-old (> 80 years) mortality was observed. However, in heterozygous higher elderly with intermediary age (70 to 79 years) showed similar survival frequency than younger elderly group (60 to 69 years). Vertical scale logarithms (0, -0.1, -0.2, -0.3, and -0.4) correspond to non-constant declines in the estimated percent surviving (100%, 90%, 82%, 74% and 67%), respectively.

From these results, a complementary analysis of percentile distribution identify 74.7 years as the 75th of TT subjects, and for this reason the sample was categorized in two groups: elderly < 75 and > 75 years old. These age groups were used in the subsequent analysis (Table 1).

A multivariate Cox regression analysis was performed to determine the potential involvement of different factors, i.e., obesity, diabetes, gender, etc., in influencing the relationship between T102C-SNP of the 5-HT2A gene receptor and mortality of the riparian elderly. The results presented in Table 3 from a multivariate analysis show that association between the high survival rate and the CT genotype was independent of sex, age, and any of the other health factors examined.

Table 3: The association between the high survival rate and the CT genotype was independent of sex, Age and any of the other health factors examined after 5-year follow-up

Variables	Wald	Risk	95%CI	p
1st Model				
CT genotype	9.878	2.046	1.309-3.197	0.002*
Age (> 75 years)	2.993	0.647	0.396-1.059	0.084
Sex (male)	1.387	1.303	0.839-2.025	0.239
Previous chronic morbidities	0.180	0.890	0.518-1.527	0.672
2nd Model				
CT genotype	10.020	2.058	1.316-3.217	0.002*
Age (> 75 years)	3.520	1.659	0.968 - 2.844	0.066
Daily intake medicine	0.028	2.061	1.319-3.221	0.867
Hospitalization (last year)	0.408	0.804	0.421-1.570	0.523

*Multivariate analysis was performed by Cox PH model.

Although we were also interested in knowing the cause of mortality, most elderly subjects who died did not receive medical assistance and it was not possible to ascertain the main cause of death (n=60, 79.4%). However, ten subjects died by cardiac failure, three by respiratory diseases, one by renal failure, one by hepatic failure, two by diabetes complications, two by gastrointestinal disorders, and one by senility. Due to the few number of elderly for whom the cause of death is known, we did not perform a correlative analysis between the cause of death and T102C-SNP.

4. Discussion

Our results indicated that heterozygous (CT) subjects exhibited a significantly higher chance to survive after 5-year than elderly subjects with either of the homozygous genotypes (TT and CC). Another important finding was that the association between CT and high survival was independent of sex and age in the moment that cohort was selected (i.e., July 2009). Furthermore, the longevity of CT-carriers was also not influenced by many health determinants.

However, several recent studies failed to find a link between T102C-SNP and neuropsychiatric or cardiometabolic disorders (Yildiz et al., 2013; Zhao et al., 2014; Peng et al., 2014). These inconsistencies suggest that some environmental, ethnic or genetic factors may play important roles in the association between T102C-SNP and the chronic disorders studied thus far. For example, in a previous investigation performed by our research team, we found an association between tobacco use and CC genotype in a Brazilian Southern population (Prado-Lima et al., 2004). However, in the present study we did not find any association between smoking habit and T102C-SNP in the riparian elderly population. However, the number of smokers in the riparian elderly sample in the present study was very low (n=57) and may be the reason for the lack of a significant relationship between T102C-SNP and tobacco use.

In the present investigation, we conducted a prospective analysis of an elderly population above 60 years of age. We found a higher number of CC and CT subjects, and our sample was not in Hardy-Weinberg equilibrium, as it contains an excess of heterozygous individuals. Our findings suggest the involvement of some, yet unknown, evolutionary factor(s). Considering that most elderly born in Maués and near region always lived in this geographical area, the impact of migration(s) on genotype frequencies is likely to be minimum. On the other hand, when we followed-up the subjects for five years, it was evident that CT

subjects exhibited a higher survival time than homozygous subjects. However, when we performed a multivariate analysis we did not find a significant influence of age, sex or any prevalent morbidity commonly found in elderly populations. Unfortunately, due to the low number of elderly who died with medical assistance, it was not possible to perform a correlative analysis between the cause of mortality and T102C-SNP genotypes. Nonetheless, it is possible to infer that heterozygosity confers some kind of resistance to elderly people probably due the maintenance of 5-HT_{2A} receptor balance that is a key component of several functions of neural and peripheral tissues.

In fact, the frequency of heterozygous subjects was higher than expected. Therefore, we checked the location where each elderly subject was born and we found that almost all of them (>95%) were born in Maués or in neighboring rainforest cities. Therefore, the potential contribution of migrations in skewing our findings is highly unlikely. Another possibility is that the homozygous subjects present higher risk to die than heterozygous subjects. Despite the fact that there are few investigations on the potential association between T102C 5-HT_{2A} polymorphism and chronic diseases, two reports suggest a potential link between this polymorphism with myocardial infarction (Yamada et al., 2000; Coto et al., 2003). The potential risk of a person with a TT-genotype to develop myocardial infarction may be related to the role of 5-HT_{2A} receptor in vascular smooth muscle contraction, platelet aggregation and thrombus formation as well as coronary artery spasms. Accordingly, selective 5-HT_{2A} antagonists may have a significant potential in the treatment of cardiovascular diseases (Nagatomo et al., 2004; Machida et al., 2013). On the other hand, CC-genotype has been associated with several life style risk behaviors such as alcoholism, smoking habits, etc.(Jakubczyk et al., 2013;Prado-Lima et al., 2004) as well as suicide attempts(Vaquero-Lorenzo et al., 2008). Taken together, these findings may explain the higher presence of heterozygous subjects in the elderly population examined in the present study. Unfortunately, because of logistic limitations, it was not possible to evaluate the distribution of T102C 5-HT_{2A} gene polymorphism in younger subjects in the Maués population. Despite this limitation and because of the longitudinal approach of our study, the high frequency of heterozygous subjects in the elderly population is unexpected and underscores the need for further investigations, including younger subjects.

The results described here add to the understanding of the roles of serotonin and its receptors, specifically 5-HT_{2A}, in human lifespan. Most elderly investigated here had low access to specialized health services that could potentially interfere with and skew our results. A previous

investigation performed by Maia-Ribeiro et al. (2013) in this same cohort described functional, gait/balance and health variables of these riparian elderly with and without history of falls. Their results suggested that falls experienced by these elderly were strongly associated to accidents due to environmental conditions related to daily life. Together, these observations show that, in general, the elderly investigated here had a satisfactory health and functional conditions at the moment they were included in our study (i.e., in July, 2009).

A second phase of the study was implemented to identify potential environmental, biochemical and genetic factors that could affect the lifespan risk of these riparian elderly. A recent investigation performed by Silva et al. (2015) found an interesting association between mortality risk and high levels of oxidized proteins, including advanced oxidation protein products (AOPP) derived from oxidation-modified albumin, as well as fibrinogen and lipoproteins. Elderly subjects with AOPP > 60 mmol/L showed a higher risk to die than subjects with low AOPP levels (Silva et al., 2015). In addition to this biochemical marker, T102C-SNP is another factor that seems to significantly affect the survival of the riparian elderly subjects.

Some methodological constraints related to this study need to be considered. The sample size analyzed here could be considered low in comparison with other population genetic studies involving association between age and gene polymorphism or age-related chronic diseases and gene polymorphism. However, the total elderly population of Maués was 2900 subjects and half of these people lived in non-accessible areas to perform clinical and blood data collection. Moreover, most elderly present similar socioeconomic, cultural and lifestyle patterns that decrease the variation that could influence the results obtained. Another factor that could influence the results is related to the initial mean age of subjects carrying different T102C-SNP. In fact, C allele subjects presented a mean age that was higher than TT subjects. To minimize the potential influence of this factor in the survival analysis, the initial age was included in all multivariate equations. The results confirmed that this variable did not affect the observed genotype-related survival.

Another important consideration to be performed is in respect to the ancestry of the sample population. In fact, Brazilian populations present an ethnic heterogeneity according to the geographic regions. This question was investigated by Saloum de Neves Manta et al (2013) who evaluated the genetic ancestry of approximately 1,300 Brazilians characterized by 46 autosomal Ancestry Informative Markers (AIMs). In addition, 798 individuals from twelve

Brazilian populations representing the five geographical macro-regions of Brazil were newly genotyped, including a Native American community and a rural Amazonian community. The results showed that the rural Amazonian community had a significant proportion of Native American ancestry than other ethnic origins (African: 0.074, European = 0,168 and Native American = 0.758). Despite the fact that we did not assess the genetic ancestrality of the elderly people investigated in our study, we consider that the ancestral description by Saloum de Neves Manta et al (2013) could also apply to the Maués region. However, to try minimizing this methodological pitfall and considering also the potential impact of migratory movements that occurred in Amazonia since 70 decade when we design our study, we avoided to analyze the association between gene and lifespan by a case-control protocols that was used in several studies. Instead, we opted to perform a longitudinal study and for this reason, we believe that our finding of an association between the T102C-SNP and survival is unlikely to be due to chance or other intervenient genetic variables.

Moreover, it is important to point out that, in general is difficult to find robust association and impact of just one SNP on elderly survival. However, in the case of T102C-SNP there are previous studies performed in different populations that indicates alterations in the concentration of HT-2A receptors and association with chronic diseases and age-related dysfunctions, which could affect the lifespan (Yamada et al., 2000; Coto et al., 2003; Prado-Lima et al., 2004; Schwanke et al., 2007; Choi et al., 2005; Noronha et al., 2010; Fehér et al., 2013; Jakubczyk et al., 2012, 2013; Lairez et al., 2013;

We did not discard that our findings could represent other hide genetic backgrounds, which for some reason affect the survival rate. Despite to be impossible, in this moment, to know how other markers could to influence the association described here, T102C-SNP seems to be a possible candidate to marker mortality risk in elderly. We understand that, independent studies performed in other populations need to be produce to observe if this finding is universal or not.

At present, however, absent of additional investigations, we cannot generalize the association between T102C-SNP 5-HT2A receptor and longevity of other human populations. Nonetheless, our results strongly suggest that 5-HT2A genetic imbalance may cause significant disturbances that lead to an increased susceptibility to death for individuals who are over 60 years of age.

Acknowledgements

We are grateful to the Maués governmental team, as well as the professionals of UnATI/UEA, for assisting us with data collection. We are also grateful to Prefeitura Municipal de Maués and Amazonas ESF-SUS. This study was supported by grants and fellowships from Fundação de Amparo a Pesquisa do Amazonas (FAPEAM, 421/2011), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq, 300969/2009-0), Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Ensino Superior (CAPES, 402325/2013) and Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul (FAPERGS, 11/2017-5).

LITERATURE CITED

- Antoinette MGA. 2006. Jute cultivation in the Lower Amazon, 1940-1990: an ethnographic account from Santarém, Pará, Brazil. *J HistGeog* 32:818-838.
- AznarS, Klein AB. 2013. Regulating prefrontal cortex activation: an emerging role for the 5-HT_{2A} serotonin receptor in the modulation of emotion-based actions? *Mol. Neurobiol* 48:841-853.
- Berger M, Gray JA, Roth BL. 2009. The expanded biology of serotonin. *Annu Rev Med* 60:355-366.
- Chen J, Zeng SL, Rao ZR, et al. 1992. Serotonergic projections from the midbrain periaqueductal gray and nucleus raphe dorsalis to the nucleus parafascicularis of the thalamus. *Brain Res* 584:294-298.
- Choi JH, Zhang SY, Park KW, et al. 2005. The association between the T102C polymorphism of the HTR_{2A} serotonin receptor gene and HDL cholesterol level in Koreans. *J BiochemMolBiol* 38:238-242.
- Cohen ML, Fuller RW, Wiley KS. 1981. Evidence for 5-HT₂ receptors mediating contraction in vascular smooth muscle. *JPharmacolExpTher* 218:421-425.
- Coto E, Reguero JR, Alvarez V, et al. 2003. 5-Hydroxytryptamine 5-HT_{2A} receptor and 5-hydroxytryptamine transporter polymorphisms in acute myocardial infarction. *Clin Sci* 104:241-245.
- Da Cruz IB, Oliveira G, Taufer M, et al. 2003. Angiotensin I-converting enzyme gene polymorphism in two ethnic groups living in Brazil's southern region: association with age. *J Gerontol A BiolSci Med Sci* 58:851-856.

- De Chaffoy de Courcelles D, Roevens P, Wynants J, et al. 1987. Serotonin-induced alterations in inositol phospholipid metabolism in human platelets. *BiochimBiophys Acta* 927:291-302.
- Duarte T, da Cruz IB, Barbisan F, et al. 2016. The effects of rosuvastatin on lipid-lowering, inflammatory, antioxidant and fibrinolytics blood biomarkers are influenced by Val16Ala superoxide dismutase manganese-dependent genepolymorphism. *Pharmacogenomics J* doi: 10.1038/tpj.2015.91.
- Eom CS, Lee HK, Ye S, et al. 2012. Use of selective serotonin reuptake inhibitors and risk of fracture: a systematic review and meta-analysis. *J Bone Miner Res* 27:1186-1195.
- Fehér A, Juhász A, László A, et al. 2013. Serotonin transporter and serotonin receptor 2A gene polymorphisms in Alzheimer's Disease. *NeurosciLett* 534:233-236.
- Ferreira RG, Moura MM, Engracia V, et al. 2002. Ethnic admixture composition of two western Amazonian populations. *Hum Biol* 74:607-614.
- Fidalgo S, Ivanov DK, Wood SH. 2013. Serotonin: from top to bottom. *Biogerontology* 14:21-45.
- González-Castro TB, Tovilla-Zárate C, Juárez-Rojop I, et al. 2013. Association of the 5HTR2A gene with suicidal behavior: case-control study and updated meta-analysis. *BMC Psychiatry* 12:13-25.
- Hoekzema E, Rojas S, Herance R, et al. 2011. [(11)C]-DASB microPET imaging in the aged rat: frontal and meso-thalamic increases in serotonin transporter binding. *ExpGerontol* 46:1020-1025.
- Jakubczyk A, Wrzosek M, Lukaszkiwicz J, et al. 2012. The CC genotype in HTR2A T102C polymorphism is associated with behavioral impulsivity in alcohol-dependent patients. *J Psychiatr Res* 46:44-49.
- Jakubczyk A, Klimkiewicz A, Kopera MM, et al. 2013. The CC genotype in the T102C HTR2A polymorphism predicts relapse in individuals after alcohol treatment. *J Psychiatr Res* 47:527-533.
- Jobim PF, Prado-Lima PA, Schwanke CH, et al. 2008. The polymorphism of the serotonin-2A receptor T102C is associated with age. *Braz J Med Biol Res* 41:1018-1023.
- Kawai M, Rosen CJ. 2010. Minireview: A skeleton in serotonin's closet? *Endocrinology* 151:4103-4108.
- Krieger H, Morton NE, Mi MP, et al. 1965. Racial admixture in north-eastern Brazil. *Ann Hum Genet* 29:113-125.
- Lairez O, Cognet T, Schaak S, et al. 2013. Role of serotonin 5-HT_{2A} receptors in the development of cardiac hypertrophy in response to aortic constriction in mice. *J Neural Transm* 120:927-935.

Maia-Ribeiro EA, Ribeiro EE, Viegas K, et al. 2013. Functional, balance and health determinants of falls in a free living community Amazon riparian elderly. *Arch Gerontol Geriatr* 56:350-357.

Machida T, Iizuka K, Hirafuji M. 2013. 5-hydroxytryptamine and its receptors in systemic vascular walls. *Biol Pharm Bull* 36:1416-1419.

Manica-Cattani MF, Bittencourt L, Rocha MI, et al. 2010. Association between interleukin-1 beta polymorphism (+3953) and obesity. *Mol Cell Endocrinol* 314:84-89.

Marston OJ, Garfield AS, Heisler LK. 2011. Role of central serotonin and melanocortin systems in the control of energy balance. *Eur J Pharmacol* 660:70-79.

Mattson MP, Maudsley S, Martin B. 2004. A neural signaling triumvirate that influences ageing and age-related disease: insulin/IGF-1, BDNF and serotonin. *Ageing Res Rev* 3:445-464.

McCorvy JD, Roth BL. 2015. Structure and function of serotonin G protein-coupled receptors. *Pharmacol Ther* 150:129-142.

Mestre TA, Zurowski M, Fox SH. 2013. 5-Hydroxytryptamine 2A receptor antagonists as potential treatment for psychiatric disorders. *Expert Opin Investig Drugs* 22:411-421.

Nagatomo T, Rashid M, AbulMuntasir H, et al. 2004. Functions of 5-HT_{2A} receptor and its antagonists in the cardiovascular system. *Pharmacol Ther* 104:59-81.

Nelson PM, Harrod JS, Lamping KG. 2012. 5HT_{2A} and 5HT_{2B} receptors contribute to serotonin-induced vascular dysfunction in diabetes. *Exp Diabetes Res* 2012:398406.

Ni J, Lu W, Wu Z, et al. 2013. T102C polymorphism of serotonin 2A type receptor gene confers susceptibility to (early onset) schizophrenia in Han Chinese: an association study and meta-analysis. *Asia Pac Psychiatry* 5:24-30.

Noronha JA, Schwanke CH, Machado DC, et al. 2010. Association between T102C polymorphism of serotonin 2A receptor gene and urinary incontinence in older women. *J Investig Med* 58:32-37.

Peng JM, Yu YJ, Su LD, et al. 2014. Meta-analysis of 5-hydroxytryptamine type 2A receptor polymorphisms and migraine susceptibility. *Int J Neurosci* 124:882-889.

Prado-Lima PA, Chatkin JM, Taufer M, et al. 2004. Polymorphism of 5HT_{2A} serotonin receptor gene is implicated in smoking addiction. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet* 128B:90-93.

Prado-Lima PS, Cruz IB, Schwanke CH, et al. 2006. Human food preferences are associated with a 5-HT_{2A} serotonergic receptor polymorphism. *Mol Psychiatry* 11:889-891.

- Pritchard AL, Harris J, Pritchard CW, et al. 2008. Role of 5HT 2A and 5HT 2C polymorphisms in behavioural and psychological symptoms of Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging* 29:341-347.
- Ramos-Neto ES, Mágulas JO, Sousa JJ, et al. 2014. Study of polymorphic variants of the serotonin 2A receptor gene (5-HT_{2A}) and its possible effects on smoking habits of a population from northeastern Brazil. *Genet Mol Res* 13:8268-8277.
- Roth BL, Chuang DM. 1987. Multiple mechanisms of serotonergic signal transduction. *Life Sci* 41:1051-1064.
- Saloum de Neves Manta F, Pereira R, Vianna R, et al. 2013. Revisiting the Genetic Ancestry of Brazilians Using Autosomal AIM-Indels. *s. PLoS ONE* 8:e75145.
- Salmon E. 2007. A review of the literature on neuroimaging of serotonergic function in Alzheimer's disease and related disorders. *J Neural Transm* 114:1179-1185.
- Schwanke CH, Bittencourt L, Noronha JA, et al. 2007. Is there an association between T102C polymorphism of the serotonin receptor 2A gene and urinary incontinence? *Braz J Med Biol Res* 40:1315-1322.
- Seyedabadi M, Fakhfour G, Ramezani V, et al. 2014. The role of serotonin in memory: interactions with neurotransmitters and downstream signaling. *Exp Brain Res* 232:723-738.
- Silva TO, Jung IE, Moresco RN, et al. 2015. Association between advanced oxidation protein products and 5-year mortality risk among amazon riparian elderly population. *Free Radic Res* 49:204-209.
- Sparkes RS, Lan N, Klisak I, et al. 1991. Assignment of a serotonin 5HT-2 receptor gene (HTR2) to human chromosome 13q14-q21 and mouse chromosome 14. *Genomics* 9:461-465.
- Vaquero-Lorenzo C, Baca-Garcia E, Diaz-Hernandez M, et al. 2006. Association between the T102C polymorphism of the serotonin-2A receptor gene and schizophrenia. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol Psychiatry* 30:1136-1138.
- Vaquero-Lorenzo C, Baca-Garcia E, Diaz-Hernandez M, et al. 2008. Association study of two polymorphisms of the serotonin-2A receptor gene and suicide attempts. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet* 147B:645-649.
- Vijayakumari AA, John JP, Halahalli HN, et al. 2015. Effect of Polymorphisms of Three Genes Mediating Monoamine Signalling on Brain Morphometry in Schizophrenia and Healthy Subjects. *Clinical Psychopharmacology and Neuroscience* 13:68-82.
- Wilcox BD, Rydelek-Fitzgerald L, Jeffrey JJ. 1992. Regulation of collagenase gene expression by serotonin and progesterone in rat uterine smooth muscle cells. *J Biol Chem* 267:20752-20757.
- Wrzosek M, Jakubczyk A, Wrzosek M. 2012. Serotonin 2A receptor gene (HTR_{2A}) polymorphism in alcohol-dependent patients. *Pharmacol Rep* 64:449-453.

Yamada S, Akita H, Kanazawa K, et al. 2000. T102C polymorphism of the serotonin (5-HT) 2A receptor gene in patients with non-fatal acute myocardial infarction. *Atherosclerosis* 150:143-148.

Yamamoto M, Jin JJ, Wu Z. 2006. Interaction between serotonin 2A receptor and endothelin-1 variants in association with hypertension in Japanese. *Hypertens Res* 29:227-232.

Yildiz SH, Akilli A, Bagcioglu E, et al. 2013. Association of schizophrenia with T102C (rs6313) and 1438 A/G (rs6311) polymorphisms of HTR2A gene. *Acta Neuropsychiatr* 25:342-348.

Zhao X, Sun L, Sun YH, et al. 2014. Association of HTR2A T102C and A-1438G polymorphisms with susceptibility to major depressive disorder: a meta-analysis. *NeuroSci* 35:1857-1866.

4 DISCUSSÃO

Através da revisão da literatura, verificou-se que este estudo é o primeiro estudo descrevendo a influência dos níveis do marcador bioquímico AOPP e o polimorfismo T102C/HTR2a na sobrevivência de idosos.

Quanto a influência dos níveis do marcador bioquímico AOPP na sobrevivência, poucos estudos prévios como Semba et al (2007) encontram associação entre altos níveis de carbonilação proteica em mulheres com deficiência grave (> 65 years), em um estudo de 5 anos de seguimento. Na verdade, o dano oxidativo a proteínas pode ser um importante efeito em cascata na homeostase da célula, podendo levar a sua perda da integridade estrutural e funcional (KREGEL e ZHANG, 2007; CHEN et al., 1995; FINKEL, 2000, AITKEN et al., 1998; JANSSEN et al., 1993; SEMBA et al., 2007).

Dessa forma, os resultados aqui descritos são plausíveis do ponto de vista biológico, uma vez que a albumina é a proteína mais abundante no organismo sendo responsável por cerca de 50% da concentração total de proteínas plasmáticas, apresenta efeitos pleiotrópicos como o transporte de várias moléculas, incluindo hormônios, ácidos graxos, manutenção do pH e manutenção da pressão osmótica (HACKNER, 2006). A albumina sérica também se liga a muitas outras moléculas insolúveis em água, associando-se, por exemplo, a moléculas de inúmeros fármacos e, dessa forma podendo afetar fortemente a maneira como eles são distribuídos através do corpo. Devido a sua propriedade de ligação aos metais e propriedades redox da sua fração Cys34 tiol, a albumina possui uma importante atividade antioxidante e sua fração Cys34 representa a maior fração de tióis livres dentro de fluidos corporais (COLOMBO et al., 2012). A albumina também é relatado como importante regulador de estados inflamatórios, bem como um eficiente biomarcador do estado nutricional (DON e KAYSEN, 2004). Portanto, a oxidação de grupos sulfidrilo (SH) da albumina pode causar a sua deterioração do sangue, e este processo pode contribuir para o aparecimento de distúrbios funcionais e estruturais (PIWOWAR et al., 2010, TUREL et al., 2009).

Dessa forma, alterações causadas pelo processo de estresse oxidativo em proteínas plasmáticas pode ser detectado através dos níveis de AOPP circulante (CAPEILLE`RE-BLANDIN et al., 2004).

A elevação de produtos de oxidação proteica como AOPP e a produção de anticorpos autoimunes parecem apresentar uma parcela de envolvimento no desenvolvimento acelerado da aterosclerose, a qual contribui para aumentar a morbidade e mortalidade de doenças cardiovasculares (KALOUSOVÁ et al., 2005).

Ainda com relação a doenças cardiovasculares, Kaneda et al.,(2002), relata uma das primeiras descobertas entre a associação do grau de severidade da doença arterial coronariana e altos níveis de AOPP através de uma regressão multivariada. Škvařilová et al., (2005) também aponta a análise dos níveis de AOPP como sendo um possível marcador para estresse oxidativo como fator de prognóstico para doenças cardiovasculares.(KANEDA et al, 2002; ŠKVAŘILOVÁ et al., 2005).

O estresse oxidativo mostra-se intimamente ligado ao processo inflamatório de fase aguda, ainda mais do que com processos avançados de glicação, sendo assim AOPP poderia, assim, descrever melhor o processo estresse oxidativo agudo, enquanto AGEs pode servir mais como um marcador de lesão crônica. (KALOUSOVÁ et al., 2005).

A correlação entre AOPP e neopterina, um marcador de ativação do macrófago, demonstra que AOPP está intimamente ligado a ativação de fagócitos e os níveis de AOPP *in vivo* também estão relacionados com os níveis de ditirosina, um eficiente marcador de proteínas oxidadas, e também com proteínas como pentosidina, um marcador de glicação proteica intimamente ligado ao estresse oxidativo (DESCAMPS-LATSCHA ; WITKO-SARSAT, 2001; WITKO-SARSAT et al.,1996).

Quanto a utilização do AOPP como possível marcador associado ao envelhecimento, doenças prevalentes durante o envelhecimento tem sido associadas com aumentos nos níveis de AOPP como doenças cardiovasculares, síndrome metabólica, diabetes, obesidade, hipertensão, dislipidemia, nefropatites e câncer (WITKO-SARSAT et al., 1996; KILIC et al., 2014; KORKMAZ et al., 2013; HOPPS et al., 2013; KANEDA et al., 2002).

Níveis elevados de AOPP e malondialdeído também foram encontrados no tecido renal de ratos mais velhos, quando comparado ao grupo de ratos mais jovens (UZUN et al., 2013).

WITKO-SARSAT et al., (1999) afirma que AOPP seria um possível marcador de estresse oxidativo de grande relevância clínica para Uremia crônica, sendo que, os níveis plasmáticos de AOPP foram positivamente correlacionados com neopterina a qual reflete a o estado de ativação dos monócitos associados a uremia crônica (WITKO-SARSAT et al., 1999).

Por esta razão, elevados níveis de AOPP podem representar um marcador de oxidativo sistêmica de várias doenças crônicas, suas complicações, e risco de mortalidade, como sugerido pelos nossos dados (KANEDA et al., 2002; CAPEILLE`RE-BLANDIN et al.,2004; WITKO-SARSAT et al., 2001; PANDEI e RIZVI, 2010; MATTEUCCI et al., 2001).

A respeito do design metodológico deste estudo como caso-controle ou estudo transversal, estudos similares tem começado a descrever a associação entre os altos níveis de AOPP e nefropatias (DESCAMPS-LATSCHA et al., 2004), correlacionando também com eventos cardíacos em pacientes acompanhados durante 6 meses de estudos (FENG et al., 2010), e também estudos com fumantes depressivos (VARGAS et al., 2013).

Nossos dados mostram uma associação entre AOPP e risco de mortalidade em 5 anos de segmento, independente de fatores como sexo, idade, ingestão de medicamentos e doenças crônicas. Não foi encontrado correlação entre os níveis de AOPP e alguns marcadores bioquímicos e fisiológicos de doenças metabólicas. Dessa forma, estes resultados sugerem que doenças metabólicas não influenciam no aumento dos níveis de AOPP e subsequentemente, no risco de morte. Infelizmente, os biomarcadores renais não puderam ser determinados, e estes poderiam ser úteis para auxiliar a elucidar a causa dos altos níveis de AOPP em pessoas idosas que faleceram durante os 5 anos de segmento do estudo. Por outro lado, a associação entre AOPP e idade foi inversa do que se esperava: em pacientes mais jovens que apresentavam maiores índices de AOPP o índice de mortalidade foi maior do que pacientes mais idosos, sugerindo que índices elevados de AOPP (> 60 mmol/L) não é uma característica associada a idade, mas é possível que represente uma disfunção ou uma doença funcional em paciente mais jovens.

A respeito do aumento descontrolado de proteína carbonil como os Produtos de Glicação avançada (AGEs) e AOPP, este pode ser considerado um marcador de envelhecimento celular (BARAIBAR et al., 2013; PRASAD et al., 2014).

Dessa forma, é importante salientar que este estudo foi realizado com dados referentes a uma população ribeirinha, com pouco acesso aos serviços de saúde e, dessa forma,

favorecendo a avaliação do impacto de marcadores oxidativos na sua sobrevivência com um número reduzido de variáveis interferentes.

Por outro lado também é importante lembrar que durante o desenvolvimento do estudo, devido ao pouco acesso aos serviços de saúde por parte dessa população, existem falta de informações quanto a causa da morte de muitos pacientes.

Quanto a influência do polimorfismo T102C na sobrevivência, sabe-se que enquanto o entendimento do estilo de vida e o ambiente podem aumentar a capacidade de prevenir doenças e maximizar as variáveis de saúde na população, os estudos genéticos sobre longevidade e saúde no envelhecimento pode fornecer importantes *insight biológicos* (WILSON et al., 2013).

Estudos longitudinais demonstram que os baixos níveis de fatores de riscos cardiovasculares no início do processo de envelhecimento podem predizer um envelhecimento saudável, podendo favorecer o processo de longevidade. A contribuição da genética para a longevidade e envelhecimento humano resultam do efeito de diversos genes, sendo cada um com uma modesta contribuição para o processo. Alguns destes genes afetam a longevidade pela susceptibilidade a doenças relacionadas ao envelhecimento ou morte prematura, entretanto outros genes são mais suscetíveis a retardar o processo de envelhecimento, favorecendo a longevidade. Porém, como os fatores genéticos atuam, e sua influência nos fatores comportamentais e ambientais ainda permanece um mistério (MURABITO et al., 2012, LAZAROU et al, 1998).

O presente estudo analisou o possível impacto do polimorfismo genético do receptor serotoninérgico T102C do gene HTR2a, na sobrevivência de idosos ribeirinhos Amazônicos e seus resultados indicam que os indivíduos heterozigotos para este polimorfismo (CT) apresentam chances maiores de sobrevivência do que os genótipos homozigóticos (TT e CC), após 5 anos de segmento do estudo. Outro importante resultado encontrado foi que a associação entre o genótipo CT e as altas taxas de sobrevivência foram independentes de outros fatores como sexo e idade e outros indicadores de saúde, no momento em que o estudo foi constituído (Julho de 2009) .

O fenótipo da longevidade mede sobretudo o tempo de vida sem considerar as variáveis das funções de saúde física ou cognitiva e dessa forma, esse fenótipo é bastante heterogêneo e pode ser afetado por fatores ambientais e fatores não genéticos(MURABITO et al., 2012).

Tendo em vista os resultados aqui obtidos, pode-se dizer que estes são de extrema importância para posteriores estudos sobre a avaliação dos efeitos genéticos na longevidade, considerando que o presente estudo avaliou outras variáveis de saúde e ambientais e estas não apresentaram interferência nos resultados.

Pesquisas realizadas pelo consórcio Research in Genomic Epidemiology (CHARGE) investigaram qual seria a contribuição de certos genes e seus respectivos polimorfismos no processo de envelhecimento. Verificou-se que certos genes, especialmente ligados ao desenvolvimento neural, possuem um papel chave no processo da longevidade, sugerindo que processos neurais possam ter grande importância na regulação do processo de envelhecimento, especialmente associado com uma reserva funcional e resiliência. A função cerebral regula a maior parte da estratégia compensatória de apoio manutenção do equilíbrio homeostático e ambos processos são essenciais para a saúde envelhecimento e longevidade (WALTER et al., 2011).

Desta forma, a caracterização destes genes envolvidos em processos neurais e pleiotrópicos, como é o caso do gene HTR2a, gene do receptor da serotonina, pode fornecer dados importantes sobre o processo de envelhecimento e longevidade em populações. Moskalev menciona sobre a identificação de genes associados a longevidade, sendo estes capazes de aumentar o tempo de vida do indivíduos quando inativados, ou quando apresentam certos polimorfismos ou mutações (MOSKALEV et al., 2014), o que pode ser observado nos resultados obtidos com o polimorfismo T012C do gene HTR2a, favorecendo a longevidade em heterozigotos.

Dessa forma, pode-se dizer que o sucesso de um organismo deve-se ao fato de que a seleção natural beneficiaria alguns alelos, e não favoreceria outros como alelos deletérios e, gradualmente, com o passar da idade os alelos mais favorecidos seriam aqueles que favorecerem a performance, devido ao fato que seu efeito a longo prazo seria o favorecimento de determinados fenótipos, mais adaptados aquele ambiente (WALTER et al., 2011).

O gene HTR2a que codifica a serotonina que é uma importante molécula e evidências mostram que mudanças relacionadas a idade no sistema serotoninérgico pode ser um fator de risco para muitas disfunções e morbidades como doenças cardiovasculares (WILLIAMS, 2012).

Além disso, no envelhecimento ocorre um declínio nas funções serotoninérgicas o que está associado com mudanças de humor, desregulações sexuais e ciclos do sono e o maior impacto da serotonina no processo de envelhecimento envolve mudanças nos seus receptores incluindo mudanças na expressão gênica e proteica bem como mudanças na afinidade dos receptores de serotonina (HOEKZEMA et al., 2011).

Em humanos o gene HTR2a que codifica o receptor de serotonina 5HT2a está localizado no cromossomo 13q14–q21, e consiste em três exons separados por dois introns (SPARKES et al., 1991).

Dentro das disfunções associadas ao receptor 5HT2a incluem disfunções relacionadas ao sistema nervoso, como enxaquecas, ansiedade, depressão (FIDALGO et al., 2013) e disfunções cardiovasculares, incluindo alterações na fisiologia do músculo liso e disfunções relacionadas a agregação plaquetária (MACHIDA et al., 2013).

No sistema vascular a serotonina liberada a partir de plaquetas ativadas muda drasticamente a função das células do músculo liso e células endoteliais. Nas células do músculo liso elas induzem a sua proliferação e migração através dos receptores 5HT2a. Esse efeito é intensificado por substâncias vasoativas como tromboxano A2 e angiotensina II. A ativação dos receptores 5HT2a no músculo liso também causam aumento da produção de prostaglandina I2 por indução da ciclooxigenase-2 e redução do óxido nítrico (NO) por supressão da Oxido nítrico (NO) sintase (MACHIDA et al. 2013).

Devido a grande relevância em patologias associadas ao sistema cardiovascular e nervoso, os receptores 5HT2a tem sido alvos para o desenvolvimento de fármacos incluindo inibidores seletivos de recaptção da serotonina (SSRIs) utilizados no tratamento de algumas desordens psiquiátricas, principalmente depressão, ansiedade e bipolaridade.

Considerando especificamente o polimorfismo T102C, algumas investigações descrevem a associação entre o genótipo CC e o alelo C com esquizofrenia (VAQUERO LORENZO et al., 2006; NI et al., 2013), comportamento suicida (GONZÁLEZ-CASTRO et al., 2013); dependência de álcool; impulsividade em pacientes dependentes de álcool (JAKUBCZYK et al., 2012; WRZOSEK et al., 2012). Associação entre o genótipo CC e fumo foi relatada por Prado-Lima (2012) (PRADO-LIMA et al., 2004) e com altos níveis de dependência de nicotina (RAMOS et al., 2014).

Por outro lado, o genótipo TT tem sido associado com algumas desordens comuns a pessoas idosas como incontinência urinária (NORONHA et al., 2010; SCHWANKE et al., 2007).

Interação entre o alelo T do polimorfismo T102C e endotelina-I e hipertensão foi relatada por Yamada et al.,(2000). Pode-se verificar associação do genótipo TT com infarto agudo do miocárdio não-fatal (YAMADA et al. 2000).

Entretanto um grande número de estudos falharam ao tentar encontrar a associação entre o polimorfismo T102C com desordens neuropsiquiátricas e cardiometabólicas (YILDIZ et al., 2013; ZHAO et al., 2014; PENG et al., 2014).

Em estudos anteriores, foi possível encontrar associação entre o uso continuado de cigarro (fumo) e associação com genótipo CC deste polimorfismo em uma população do sul do Brasil. Porém este estudo não encontrou associação entre o hábito de fumar e o polimorfismo genético T102C em idosos ribeirinhos, o número de idosos ribeirinhos fumantes foi bastante baixo (n=57) e este fato pode afetar os resultados.

A respeito dos resultados contraditórios publicados na literatura, é interessante considerar os resultados descritos por Jobin et al., (2008) que comparou a frequência dos genótipos do polimorfismo T102C em três grupos etários de pacientes da comunidade (14-45 ; 46-64 e 65-100 anos) e observou um significativo aumento na frequência do genótipo TT em grupo de meia idade (46-67 anos). Porém esta frequência muda em grupos mais velhos mostrando um aumento na frequência genotípica do genótipo CC (JOBIM et al., 2008).

No presente estudo, analisou-se idosos a partir dos 60 anos de idade e encontrou-se um grande número de idosos portadores do genótipo CC e CT, revelando que a amostra não estava em Equilíbrio de Hardy-Weinberg, ocorrendo um excesso de indivíduos heterozigotos. Estes resultados indicam que algum fator evolutivo está agindo sobre esta população. Considerando isso, a maior parte dos idosos nasceram em Maués ou em regiões próximas e passaram a maior parte da sua vida vivendo nestas localidades e o impacto da migração nestas frequências genotípicas provavelmente foi atenuada. Por outro lado, quando acompanhados durante cinco anos de estudos, fica evidente que o genótipo CT apresenta maiores níveis de sobrevivência do que os genótipo homozigotos. Porém quando se aplica uma análise multivariada, não se encontrou influência da idade, sexo e comorbidades, comumente encontradas em pessoas idosas, na frequência genotípica desta população. Infelizmente devido ao baixo número de

idosos que receberam assistência médica não foi possível analisar a associação entre a causa das mortes e os genótipos do polimorfismo T102C.

Por esta razão, nós apenas podemos especular que o alto número de heterozigotos pode conferir algum tipo de resistência aos idosos provavelmente devido a manutenção do equilíbrio que deste receptor 5-HT_{2A} nas funções neurais e periféricos.

Estes resultados contribuem para o entendimento do papel da serotonina no tempo de vida, especificamente através de seus receptores 5HT_{2a}. A consistência destes dados pode ser comprovada devido ao fato de que esta população possui baixo acesso a centros de saúde, o que poderia causar interferência nos resultados.

5 CONCLUSÃO

A partir da análise dos resultados deste estudo pode-se verificar a associação entre altos níveis de proteínas oxidadas (AOPP) e risco de mortalidade.

Idosos com AOPP > 60 mmol / L apresentaram maior risco de morte do que indivíduos com baixos níveis de AOPP, independente de outras variáveis de saúde após os 5 anos de seguimento deste estudo.

A determinação das frequências alélicas e genótípicas revelou a associação do polimorfismo serotoninérgico T102C com a longevidade deste grupo de idosos, independente das variáveis de saúde.

A avaliação da associação entre o polimorfismo T102C-5HT2A com sobrevivência após cinco anos de seguimento revelou que os indivíduos portadores do genótipos CC e TT deste polimorfismo apresentam maior suscetibilidade à morte após os 60 anos de idade.

Desta forma, pode-se concluir que estes marcadores podem ser eficientes em estudos epidemiológicos e populacionais relacionados a longevidade, podendo avaliar o risco de mortalidade independente de outros fatores intervenientes.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDOLLAHI, M. et al. Oxidative Stress in Aging. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2014, 2014.

ACHUTTI, A.; AZAMBUJA, M. I. R. Doenças crônicas não-transmissíveis no Brasil: repercussões do modelo de atenção à saúde sobre a seguridade social Chronic non-communicable diseases in Brazil: the health care system and the social security sector . **Ciência & Saúde Coletiva**, v.9, n. 4, p.833-840, 2004.

ADAMS, J. Genetic control of aging and life span. **Nature Education**, v.1, n.1, 2008.

AITKEN, R. J. et al. Relative impact of oxidative stress on the functional competence and genomic integrity of human spermatozoa. **Biology Reproductive**, v.59, n.5, p.1037-46, 1998.

ANTYPA, N.; SERRETTI , A.; RUJESCU, D. Serotonergic genes and suicide: a systematic review. **European Neuropsychopharmacology**, v.23(10), p.1125-42, 2013.

ARREOLA, R. et al. Immunomodulatory Effects Mediated by Serotonin. **Journal of Immunology Research**, v, 2015, 2015.

ARIAS, B et al. The 5-HT(2A) receptor gene 102T/C polymorphism is associated with suicidal behavior in depressed patients. **American Journal of Medical Genetics**, v. 8, 2001.

ARRANZ, M. et al. Association between clozapine response and allelic variation in 5-HT2A receptor gene. **Lancet**, v.29;346(8970), p.281-2, 1995.

AVINASH, S. S. et al. . Advanced oxidation protein products and total antioxidant activity in colorectal carcinoma. **Indian Journal of Physiology and Pharmacology**, v.53(4), p.370-374, 2009.

AVIV, A. Leukocyte telomere dynamics, human aging, and life span. **Amsterdam, The Netherlands: Elsevier**; v.163–176, 2011.

AZMITIA, E. C. Serotonin and brain: evolution, neuroplasticity, and homeostasis. **International review of neurobiology**, v. 77, p.31-56. 2007.

BARAIBAR, M. A.; LADOUCE, R.; FRIGUET, B. Proteomic quantification and identification of carbonylated proteins upon oxidative stress and during cellular aging. **Journal of Proteomics**, v.92, p.63-70, 2013.

BAMPALIS, V. G. Effect of 5ht receptor antagonist of human platelet activation in blood exposed to physiologic stimuli and atherosclerotic plaque. **International Society on Thrombosis and Haemostasis**, v.10, 2011.

BARNES, N. M.; SHARP, T. A review of central 5-HT receptors and their function. **Neuropharmacology**, v. 38, v.1083 – 1152, 1999.

BARSOTTI, A, et al. Role of advanced oxidation protein products and Thiol ratio in patients with acute coronary syndromes. **Clinical Biochemistry**, v.44(8-9), p.605-611, 2011.

BELLIVIER, F. et al. Possible association between serotonin transporter gene polymorphism and violent suicidal. **Biological Psychiatry**, v. 48, p.319–322, 2000.

BERGER, M.; GRAY, J.A.; ROTH, B. L. The Expanded Biology of Serotonin **Annual Review of Medicine**, v. 60, p.355-366, 2009.

BERLETT, B. S.; STADTMAN. E. R. Protein Oxidation in Aging, Disease, and Oxidative Stress. **The journal of biological chemistry**, v. 272, n. 33, p. 20313–20316, 1997.

BJORK, J. M. et al. Serotonin 2a receptor T102C polymorphism and impaired impulse control. **American Journal of Medical Genetics**, v. 114, p. 336–339, 2002.

BONAFÈ, M. et al. Polymorphic Variants of Insulin-Like Growth Factor I (IGF-I) Receptor and Phosphoinositide 3-Kinase Genes Affect IGF-I Plasma Levels and Human Longevity: Cues for an Evolutionarily Conserved Mechanism of Life Span Control. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v.88, n.7, p. 3299-304, 2013.

BOULLIN, D. J et al. Increased platelet aggregation responses to 5-hydroxytryptamine in patients taking chlorpromazine. **British Journal of Clinical Pharmacology**, v.2, p.29-35, 1975 a.

BOULLIN, D.J. et al. The actions of flupenthixol upon 5-hydroxytryptamine-induced aggregation and the uptake of 5-hydroxytrypt-amine and dopamine by human blood platelets. **British Journal of Clinical Pharmacology**, v.55, p.555-557, 1975 b.

BURCH J. B. et al. Advances in Geroscience: Impact on Healthspan and Chronic Disease. **Journals of Gerontology: BIOLOGICAL**, v. 69, n.S1, p.S1–S3, 2014.

CADERNOS DE ATENÇÃO BÁSICA, ENVELHECIMENTO E SAÚDE DA PESSOA IDOSA. **MINISTÉRIO DA SAÚDE, Cadernos de Atenção Básica**, n. 19, Brasília /DF , 2006

CAMARANO, A. A. (Org.). Muito além dos 60: os novos idosos brasileiros., Rio de Janeiro, Ipea, 1999. Disponível em:

http://www.ipea.gov.br/portal/images/stories/PDFs/livros/Arq_29_Livro_Completo.pdf

CAPEILLÈRE-BLANDIN, C. et al. Biochemical and spectrophotometric significance of advanced oxidized protein products. **Biochimica et Biophysica Acta**, v.28;1689(2), p.91-102, 2004.

CHANG, F. C. F.; FUNG, V. S. C. Clinical significance of pharmacogenomic studies in tardive dyskinesia associated with patients with psychiatric disorders. **Pharmgenomics Perspective Medics**, v.7, p.317–328, 2014.

CHEN, C. et al. Genetic variations in the dopaminergic system and alcohol use: a system-level analysis. **Adicction Biology**, v. 17, p. 479–489, 2011.

CHEN. Q, et al. Oxidative DNA damage and senescence of human diploid fibroblast cells. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v.9, n.92 (10), p.4337–4341, 1995.

CHOI, J. H. et al. The Association between the T102C Polymorphism of the HTR2A Serotonin Receptor Gene and HDL Cholesterol Level in Koreans. **Journal of Biochemistry and Molecular Biology**, v.38, p. 238-242, 2005.

CITRA, P.; RAMOS, A. Síndrome serotoninérgico: manifestações clínicas, diagnóstico, terapeutica. Acessado em : <http://hdl.handle.net/10400.10/517>

COLOMBO, G. et al. Redox albuminomics: oxidized albumin in human diseases. **Antioxidant Redox Signal**, v. 1,17(11), p.1515-27, 2012.

COOK, E. H et al. Primary structure of the human platelet serotonin 5-HT_{2A} receptor: Identity with frontal cortex serotonin 5-HT_{2A} receptor. **Journal of Neurochemistry**, v.63, p.465–469, 1994.

COSTA KREWER, C. et al. Habitual Intake of Guaraná and Metabolic Morbidities: An Epidemiological Study of an Elderly Amazonian Population. **Phytotherapy Research**, v.25, p.1367-1374, 2011.

COTO, E. et al. 5-Hydroxytryptamine 5-HT_{2A} receptor and 5-hydroxytryptamine transporter polymorphisms in acute myocardial infarction. **Clinical Science (London)**, v.104(3), p.241-5, 2003.

CSABA G., UBORNYHK L. Effect of hormones on the RNA synthesis of *Tetrahymena pyriformis*. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v. 68C, p. 251-253, 1981.

CSABA G.; BIERBAUER J. Investigation on the specificity of hormone receptors in Planarians. **General and Comparative Endocrinology**, v. 22, p. 132-134, 1974.

CSABA G.; NAGY S.U.; LANTOS T. Cyclic AMP and its functional relationship in *Tetrahymena*: a comparison between phagocytosis and glucose uptake. **Acta Biologica et Medica Germanica**, v.37, p. 505-507, 1978.

CSABA, G. Presence in and effect of pineal indoleamines at very low level of phylogeny. **Experientia**, v.49:, p.627-634, 1993.

CSABA. G. The Unicellular *Tetrahymena* as a model cell for Receptor Research. *International Review of Cytology*, v.95, p. 327–377, 1985.

D'AQUILA, P. et al. Epigenetics and aging. **Maturitas**, v. 74, n. 2, p.130–136, 2013.

DE LUCA, V. I.; LIKHODI, O.; KENNEDY. Differential expression and parent-of-origin effect of the 5-HT_{2A} receptor gene C102T polymorphism: analysis of suicidality in schizophrenia and bipolar disorder. **American Journal of Medical Genetics Part B**, v.144, p.370–374, 2007.

DESCAMPS-LATSCHA, B, et al.. Advanced oxidation protein products as risk factors for atherosclerotic cardiovascular events in nondiabetic predialysis patients. **American Journal of Kidney Diseases**, v.45(1), p.39-47, 2005.

DESCAMPS-LATSCHA, B. et al.. Early prediction of IgA nephropathy progression: proteinuria and AOPP are strong prognostic markers. **Kidney Int**, v.66(4), p.1606-1612, 2004.

DESCAMPS-LATSCHA, B., WITKO-SARSAT. V. Importance of oxidatively modified proteins in chronic renal failure. **Kidney International - Nature**, v.78, p.108-113, 2001.

DINIZ, L. F. M.; FUENTES, D.; COSENZA, R. M. Neuropsicologia do Envelhecimento, Uma Abordagem Multidimensional . Editora Artmed, 2013.

DO PRADO-LIMA. et al. Polymorphism of 5HT2A serotonin receptor gene is implicated in smoking addiction. **American Journal Medical Genetics Part B**, v. 128, p. 90-93, 2004.

DOGGRELL S. A. The role of 5-HT on the cardiovascular and renal systems and the clinical potential of 5-HT modulation. **Expert Opinion on Investigational Drugs**, v.12(5), p.805-23, 2003.

DON, B. R., KAYSEN, G. Serum albumin: relationship to inflammation and nutrition. **Seminars in Dialysis** , v.17(6), p.432-7, 2004.

DRUSE, M. J.; TAJUDDIN, N. F.; RICKEN, J. D. Effects of Chronic Ethanol Consumption and Aging on 5-HT2A Receptors and 5-HT Reuptake Sites. **Alcohol Clinical Exp Reserach**, v. 21(7), p.1157-64, 1997.

DU, L. et al..Serotonergic genes and suicidality. **Crisis**, v. 22(2), p.54-60, 2001.

LAKATTA, E. G. Arterial and Cardiac Aging: Major Shareholders in Cardiovascular Disease Enterprises. **Circulation**, v.107, p. 139-146. 2003.

ENGEL, J. A., et al. Serotonergic and dopaminergic involvement in ethanol intake. **Clinical Neuropharmacology**, v. 15, p. 64A-65A, 1992.

FAIRWEATHER, I. Et al.. Immunocytochemical demonstration of 5-hydroxytryptamine (serotonin) in the nervous system of the liver fluke, *Fasciola hepatica* (*Trematoda, Digenea*). **Parasitology Research**, v. 73(3), p. 255-258, 1987.

FELDMAN, J. M.; ROCHE, J. M.; BLUM, J. J. Monoamine oxidase and catechol-O-methyl transferase activity in *Tetrahymena*. **Journal of Protozoology**, v.24(3), p.459-62, 1977.

FENG, Y. et al. Prolonged pain to hospital time is associated with increased plasma advanced oxidation protein products and poor prognosis in patients with percutaneous coronary intervention for ST-elevation myocardial infarction. **Heart Vessels**, v.25(5), p.374-378, 2010.

FIDALGO , S.; IVANOV, D. K.; WOOD, S. H. Serotonin: from top to bottom. **Biogerontology**, v.14, p.21-45, 2013.

FINKEL, T.; HOLBROOK, N. J. Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing. **Nature**, v.9, n.408(6809), p.239-47, 2000.

FRAGA, M. F.; ESTELLER, M. Epigenetics and aging: the targets and the marks. **Trends in Genetics**, v. 23, n. 8, p. 413-418 , 2007

FRANQUINET R. Role de la serotonine et des catecholamines dans la regeneration de la planarie *Polycelis tenuis*. **Journal of embryology and experimental morphology**, v.51, p.85-95, 1979.

FRANQUINET, R.; LE MOIGNE , A.; HANOUE J. The adenylate cyclase system of *Planarie Polycelis tenuis*: activation by serotonin and guanine nucleotides. **Biochimica et Biophysica Acta**, v.539, p. 88-92, 1978.

FRIED, L. P. Epidemiology of Aging. **Epidemiologic Reviews**, v. 22, n. 1, 2000.

GALAKTIONOVA, D. et al. An association study of polymorphisms in HTR2A, BDNF and SLC6A4 genes with paranoid schizophrenia and suicidal behavior. **Zh Nevrol Psikhiatr Im S S Korsakova**, v.112(10), p.39-44, 2012.

GILMAN, A.; BRUNTON, L. L.; CHABNER, B.; KNOLLMANN, B. C. Goodman e Gilman as bases farmacológicas da terapêutica. **Porto Alegre: AMGH**, 2012.

GLEBOV, K. et al. Mechanisms underlying dual effects of serotonin during development of *Helisoma trivolvis* (Mollusca). **BMC Developmental Biology**, v. 13, 2014.

GOLAN, D. E. et al. Princípios de Farmacologia: A Base Fisiopatológica da Farmacoterapia. **Guanabara Koogan**, 3ª edição, 2009.

GONZÁLEZ-CASTRO, T. B. et al. Association of the 5HTR2A gene with suicidal behavior: case-control study and updated meta-analysis. **BMC Psychiatry**, v.12, p.13:25, 2013.

GOODMAN, A.G.; GILMAN, L.L. As bases farmacológicas da terapêutica. 11.ed. Rio de Janeiro: **McGram-Hill Interamericana do Brasil**, 2002.

GORWOOD, P. et al. ,Serotonin transporter gene polymorphisms, alcoholism, and suicidal behavior. **Biological Psychiatry**, v. 48, p.259–264, 2000.

GOTTLIE, M. G.V. et al. Aspectos genéticos do envelhecimento e doenças associadas: uma complexa rede de interações entre genes e ambiente. **Revista Brasileira de Geriatria e Gerontologia**, v.10, n.3, 2007.

HACKNER, S. G. Plasma and albumin transfusions: indications and controversies . **Cornel university veterinary specialist**. 2013

HALDER, I et al. Serotonin Receptor 2A (HTR2A) Gene Polymorphisms Are Associated with Blood Pressure, Central Adiposity, and the Metabolic Syndrome. **Metabolic Syndrome and Related Disorders**, v.5(4), p. 323–330, 2007.

HANSENNE, M.,; PITCHOT , W.,; ANSSEAU; M. Serotonin, personality and borderline personality disorder. **Acta Neuropsychiatry**, v.14(2), p.66-70, 2002.

HARMAN D. Aging - a Theory Based on Free-Radical and Radiation Chemistry. **Journals of Gerontology**, v. 11, n.3, p.298-300, 1956.

HARMAN D. The aging process. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 78, n.11, p.7124-7128, 1981.

HINDLE. J .V. Ageing, neurodegeneration and Parkinson's disease. **Oxford JournalsMedicine & Health Age and Ageing**, v. 39, n.2P, p.156-161, 2009.

HOLZENBERGER, M. et al. IGF-1 receptor regulates lifespan and resistance to oxidative stress in mice. **Nature**, v. 421, n. 6919, p.182-187, 2003.

HOEKZEMA E et al (2011) [(11)C]-DASB microPET imaging in the aged rat: frontal and meso-thalamic increases in serotonin transporter binding. **Experimental Gerontology**, v.46(12), p.1020–1025, 2011.

HOPPS, E., CAIMI, G., KANEDA, E. Protein oxidation in metabolic syndrome. **Clinical & Investigative Medicine**, v.1;36(1):E1-8, 2013.

HUANG, Y. et al. Cases-Control association study and transmission disequilibrium test of T102C polymorphism in 5HT2A and Tourette syndrome.**Zhonghua Yi Xue Yi Chuan Xue Za Zhi**, v. 18(1), p.11-3, 2001.

HUBER, R. et al. Serotonin and aggressive motivation in crustaceans: Altering the decision to retreat. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 94 (11), p. 5939–5942, 1997.

HUNG C. W, et al. Ageing and neurodegenerative diseases. **Aging Research Reviews**, v. 9, p. S36–S46.2010.

KAHN, A. M. et al. Effects of serotonin on intracellular pH and contraction in vascular smooth muscle. *Circular Research*, v.71(6), p.1294-304, 1992.

ITO, T. et al. Serotonin Increases Interleukin-6 Synthesis in Human Vascular Smooth Muscle Cells. **Circulation**, v. 102, 2000.

IWAO, Y et al. The structural and pharmacokinetic properties of oxidized human serum albumin, advanced oxidation protein products (AOPP). **Drug Metabolism and Pharmacokinetics**, v21 (2), p.140-146, 2006.

JAKUBCZYK, A. et al. The CC genotype in HTR2AT102C polymorphism is associated with behavioral impulsivity in alcohol-dependent patients. **Journal of Psychiatric Research**, v. 46(1), p: 44–49, 2012.

JANSSEN, Y. M. et al. Cell and tissue responses to oxidative damage. **Laboratory Investigation – Nature**, v.69(3), p.261-74, 1993.

JIN, K. Modern Biological Theories of Aging. **Mordern Therories of Aging** , v.1, p. 72-74, 2010.

JOBIM, P. F. et al. The polymorphism of the serotonin-2A receptor T102C is associated with age. **Brazilian Journal Medical Biological Research**, v.41(11), 2008.

JOOPER, R. et al. T102C polymorphism in the 5HT2A gene and schizophrenia: relation to phenotype and drug response variability. **Journal of Psychiatry & Neuroscience**, v.24(2):, p41-6, 1999.

KALOUSOVÁ, M. J. et al. Advanced glycoxidation end products in chronic diseases-clinical chemistry and genetic background. **Mutation Research**, v.11;579(1-2), p.37-46, 2005.

KANEDA, H. et al. Increased level of advanced oxidation protein products in patients with coronary artery disease. **Atherosclerosis**, v.162(1):221-225, 2002.

KANEDA, H., TAGUCHI, J., OGASAWARA, K. Increased level of advanced oxidation protein products in patients with coronary artery disease. **Atherosclerosis**, v.162, p.221–225, 2002.

KAUMANN, A. J.; LEVY, F. O. 5-Hydroxytryptamine receptors in the human cardiovascular system **Pharmacology & Therapeutics**. v.111, p.674–706, 2006.

KAWAKAMI, A. et al. Identification and characterization of oxidized human serum albumin. A slight structural change impairs its ligand-binding and antioxidant functions. **FEBS J**, v. 273(14), p.3346-57, 2006.

KENYON, C. J. The genetics of ageing. **Nature**, v. 464(25), 2010.

KHAIT, V. D et al. Association of Serotonin 5-HT_{2A} Receptor Binding and the T102C Polymorphism in Depressed and Healthy Caucasian Subjects. **Neuropsychopharmacology**, v.30, p.166–172, 2005.

KILIC, N. et al. An Investigation into the Serum Thioredoxin, Superoxide Dismutase, Malondialdehyde, and Advanced Oxidation Protein Products in Patients with Breast Cancer. **Annals of Surgical Oncology**, v. 21(13), p.4139-43, 2014.

KORKMAZ, G. G. et al. Altinoglu E, Civelek S, Sozer V, Erdenen F, Tabak O, Uzun H. The association of oxidative stress markers with conventional risk factors in the metabolic syndrome. **Metabolism**, v.62(6), p.828-835, 2013.

KREGEL, K.C., ZHANG, H. J. An integrated view of oxidative stress in aging: Basic mechanisms, functional effects and pathological conditions. **American Journal of Physiology - Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v.292:R18–R36, 2007.

KROEZE, W. K.; KRISTIANSEN, K.; ROTH, B. L. Molecular Biology of Serotonin Receptors – Structure and Function at the Molecular Level. **Current Topics in Medicinal Chemistry**, v.2, p.507-528, 2002.

LAZAROU, J.; POMERANZ, B.H.; COREY, P. N. Incidence of adverse drug reactions in hospitalized patients: a meta-analysis of prospective studies. **JAMA**, v. 279(15), p.1200-05. 1998.

LEIBOWITZ. S. F. The Role of Serotonin in Eating Disorders. **Drugs**, v.39, p. 33-48, 1990.

LEEUWENBURGH, C.; HEINECKE J. W. Oxidative stress and antioxidants in exercise. **Current Medicinal Chemistry**, v.8(7), p.829–38, 2001

LIOLITSA, D et al.. Association study of the 5-HT_{2A} receptor gene polymorphism, T102C and essential hypertension. **Journal of Human Hypertension**, v. 15, p.335-339, 2001.

LIU Y, LONG J, LIU J. Mitochondrial free radical theory of aging: Who moved my premise? **Geriatrics & Gerontology International**, v. 14, n.4, p.740–749, 2014.

PYTIAK, M. et al. . Serotonin Receptors – From Molecular Biology to Clinical Applications. **Physiological Research**, v. 60, p. 15-25, 2011.

MAIA RIBEIRO, E. A, et al. Functional, balance and health determinants of falls in a free living community Amazon riparian elderly. **Archives of Gerontology and Geriatrics**, v.56(2), p.350-357, 2013.

MACHIDA, T.; IIZUKA, K.; HIRAFUJI, M. 5-hydroxytryptamine and its receptors in systemic vascular walls. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, v. 36(9), p. 1416-1419, 2013.

MALTA, D, C., et al. A construção da vigilância e prevenção das doenças crônicas não transmissíveis no contexto do Sistema Único de Saúde. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v. 15(1), p.47 – 65, 2006.

MANSOUR, T. E., et al. The effect of serotonin (5-hydroxytryptamine) on the formation of adenosine 3',5'monophosphate by tissue particles from the liver fluke, *Fasciola hepatica*. **J. Biological Chemistry** , v.235, p. 466-470, 1960.

MÄNTYLÄ, K. et al. The nervous system of Tricladida. IV. Neuroanatomy of *Planaria torva* (*Paludicola*, *Planariidae*): an immunocytochemical study. **Hydrobiologia**. v. 383 (1-3), p. 167-17310, 1998.

MAIA-RIBEIRO, E. A. et al. Functional, balance and health determinants of falls in a free living community Amazon riparian elderly. **Archives of Gerontology and Geriatrics**, v.56(2), p.350-357, 2013.

MARTINOWICH, K.; LU. B. Interaction between BDNF and Serotonin: Role in Mood Disorders. **Neuropsychopharmacology**, v.33, p.73–83, 2008.

MATTEUCCI E, et al. Advanced oxidation protein products in plasma: stability during storage and correlation with other clinical characteristics. **Acta Diabetologica**, v. 38(4), p.187-9, 2001.

MASORO, E. J.; AUSTAD, S. N. Handbook of the Biology of Aging. Amsterdam, **The Netherlands: Elsevier**; 2011.

MEEUSEN, R.; DE MEIRLEIR, K. Exercise and brain neurotransmission. **Sports Med**, v.20, p.160-88, 1995.

MELTZER, H. Y.; LOWY, M. T. – The serotonin hypothesis of depression. In: Meltzer, H.Y. (ed.) – Psychopharmacology: the Third Generation of Progress. **Raven Press, New York**, p. 513-526, 1987.

MERA, K. et al.. The structure and function of oxidized albumin in hemodialysis patients: Its role in elevated oxidative stress via neutrophil burst. **Biochemical and Biophysical Research**, v.334, p.1322–1328, 2005.

MEREDITH P.J.; WALFORD. R.L. Autoimmunity, histocompatibility, and aging. **Mechanisms of Ageing and Development**, v. 9, n.1-2, p.61-77, 1979.

MORAES , E. N.; DE MORAES, F. L.; LIMA, S. P. P. Aging biological and psychological characteristics. **Revista Medica de Minas Gerais**, v. 20(1), p. 67-73, 2010.

MORLEY A. A. Is Aging the Result of Dominant and Co-Dominant Mutations. **Journal of Theoretical Biology**, v. 98, n.3, p.469-74, 1982.

MOSKALEV. A. A. et al. Genetics and epigenetics of aging and longevity. **Cell Cycle**, v.13, n.7, p.1063-77, 2014.

MUNRO, H. N. Free amino pools and their role in regulation. In: Munro, H.N. (ed.) – **Mammalian Protein Metabolism**. vol. IV. New York, Academic Press, p. 299-386, 1970.

MURABITO, J. M.; YUAN, R.; LUNETTA.K. L. The Search for Longevity and Healthy Aging Genes: Insights From Epidemiological Studies and Samples of Long-Lived Individuals. **The Journals of Gerontology: Series A**, v.67,A(5), p.470–479, 2012.

NACMIAS, B. et al. 5-HT2A receptor gene polymorphisms in anorexia nervosa and bulimia nervosa. **Neuroscience Letters**, v. 277(2), p.134–136, 1999.

NAGATOMO, T. et al. Functions of 5-HT_{2A} receptor and its antagonists in the cardiovascular system. **Pharmacology & Therapeutics**, v.104, p.59–81, 2004.

NEATON, J. D.; WENTWORTH, D. Serum cholesterol, blood pressure, cigarette smoking, and death from coronary heart disease. Overall findings and differences by age for 316,099 white men. Multiple Risk Factor Intervention Trial Research Group. **Archives of Internal Medicine**, v.152, n.1, p.56-64, 1992.

NORONHA, J. A. et al. Association between T102C polymorphism of serotonin 2A receptor gene and urinary incontinence in older women. **Journal of Investigative Medicine**, v.58, p.32-7, 2010.

NI, X, et al Monoamine oxidase a gene is associated with borderline personality disorder. **Psychiatry Genetics**, v.17(3), p.153-7, 2007.

NI, X, et al. Serotonin 2A receptor gene is associated with personality traits, but not to disorder, in patients with borderline personality disorder. **Neuroscience Letters**, v.20;408(3), p.214-9, 2006.

NISHIGUCHI, N. et al. Association between 5HT_{2A} receptor gene promoter region polymorphism and eating disorders in Japanese patients. **Biological Psychiatry**, v. 15, 2001.

NOMURA, M et al. Involvement of a polymorphism in the 5-HT_{2A} receptor gene in impulsive behavior. **Psychopharmacology (Berl)**. v.187(1), p.30-5, 2006.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE. Relatório mundial de envelhecimento e saúde. 2015. Disponível em :

<http://sbgg.org.br/wp-content/uploads/2015/10/OMS-ENVELHECIMENTO-2015-port.pdf>

ORR, M. W.; BOULLIN. D. J. The relationship between changes in 5-HT induced platelet aggregation and clinical state in patients treated with fluphenazine. **British Journal of Clinical Pharmacology**, v.3, p.925-928, 1976.

OZDENER, F. et al. 5-Hydroxytryptamine-2A receptor gene (HTR 2 A) candidate polymorphism (T 102 C): Role for human platelet function under pharmacological challenge *ex vivo*. **Methods Find Exp Clin Pharmacology**, v.27(6), p. 395-400, 2005.

PALÁCIOS, J. Mudança e Desenvolvimento Durante a Idade Adulta e a Velhice. Em C. Coll, J. Palacios, & A. Marchesi. **Desenvolvimento Psicológico e Educação Psicologia Evolutiva**, v. 1, Ed. Porto Alegre: Artmed, 2004.

PANDEY, K. B., RIZVI, S. I. Markers of oxidative stress in erythrocytes and plasma during aging in humans. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**,v.3:1, p.2-12, 2010.

PEÑAS-LLEDÓ, E. M et. al. Association between T102C and A-1438G polymorphisms in the serotonin receptor 2A (5-HT2A) gene and schizophrenia: relevance for treatment with antipsychotic drugs. **Clinical Chemistry and Laboratory Medicine**, v. 45(7), p.35-8, 2007.

PENG, J. M. et al. Meta-analysis of 5-hydroxytryptamine type 2A receptor polymorphisms and migraine susceptibility. **Int. J. Neurosci**, v.124, p.882-9, 2014.

PIWOWAR, A., KNAPIK-KORDECKA, M., WARWAS, M. Comparison of the usefulness of plasma levels of oxidatively modified forms of albumin in estimating kidney dysfunction in diabetic patients. **Clinical & Investigative Medicine**, v.33(2):E109, 2010.

POLESSKAYA O. O., SOKOLOV B. P. Differential expression of the “C” and “T” alleles of the 5-HT2A receptor gene in the temporal cortex of normal individuals and schizophrenics. **Journal of Neuroscience Research**, v.67, p 812–822, 2002.

PRADO-LIMA, P. S et al. Human food preferences are associated with a 5-HT2a serotonergic receptor polymorphism. **Molecular Psychiatry**, v.11(10), p. 889–891, 2006.

PRASAD, C. et al. Lifestyle and Advanced Glycation End Products (AGEs) Burden: Its Relevance to Healthy. **Aging Aging Disease**, v5(3), p.212-217, 2014.

PRASAD K. Low levels of serum soluble receptors for advanced glycation end products, biomarkers for disease state: myth or reality. **Int J Angiol**, v,23(1), p.11-6, 2014

PRZYKLENK, K.; et al. Targeted inhibition of the serotonin 5HT2a receptor improves coronary patency in an in vivo model of recurrent thrombosis. **Journal of Thrombosis and Haemostasis**, v.8(2), p. 331–340, 2010.

PYTLIAK, M. et al. Serotonin Receptors – From Molecular Biology to Clinical Applications . **Physiology Research**, v. 60, p. 15-25, 2011.

RAMOS, L. R. Fatores determinantes do envelhecimento saudável em idosos residentes em centro urbano: Projeto Epidoso, São Paulo Determinant factors for healthy aging among senior citizens in a large city: the Epidoso Project in São Paulo. **Caderno de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v.19, n.3, p.793-798, 2003.

RAPPORT, M. M. The discovery of serotonin. **Perspectives in Biology and Medicine**, v.40,p. 260–273, 1977.

RAPPORT, M. M.; GREEN, A A, PAGE, I. H. Crystalline serotonin. **Science**, v. 108, 329–33, 1948 a.

RAPPORT, M. M.; GREEN, A A, PAGE, I. H. Partial purification of the vasoconstrictor in beef serum.. **Journal of Biological Chemistry**, v.174, p.735–741, 1948 b.

RAPPORT, M. M.; GREEN, A. A.; PAGE, I. Serum vasoconstrictor, serotonin; isolation and characterization. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 176(3), p.1243-51, 1948 c.

RATTAN S.I. Synthesis, modifications, and turnover of proteins during aging. **Experimental Gerontology**, v. 31, n.1-2, p.33-47, 1996.

REIK, W. Stability and flexibility of epigenetic gene regulation in mammalian development. **Nature**, v. 447, p. 425-432, 2007.

REUTER-LORENZ; P. A.; PARK, D. C. How Does it STAC Up? Revisiting the Scaffolding Theory of Aging and Cognition. **Neuropsychology Review**,v.24, n.3, p.355-70, 2014.

RICCAA, V. et al. 5-HT2A receptor gene polymorphism and eating disorders. **Neuroscience Letters**, v. 323(2), p.105–108, 2002.

RODRÍGUEZ-RODERO, S. et al. Aging Genetics and Aging **Aging and disease**, v. 2 (3), p. 186-195, 2011.

SAXENA P. R.; LAWANG, A. A comparison of cardiovascular and smooth muscle effects of 5-hydroxytryptamine and 5-carboxamidotryptamine, a selective agonist of 5-HT1 receptors. **Archives Internationales de Pharmacodynamie et de Therapie**, v.277(2), p.235-252, 1985.

SCHINKA, J.A.; BUSCH, R.M.; ROBICHAUX-KEENE, N. A meta-analysis of the association between the serotonin transporter gene polymorphism (5-HTTLPR) and trait anxiety. **Molecular Psychiatry**, v.9, p.197–202, 2004.

SCHMIDT, M. I. et al. Doenças crônicas não transmissíveis no Brasil: carga e desafios atuais. *Saúde no Brasil*. **The Lancet**, v.6736, n.11, 2011.

SCHWANKE, C.H.A., et al. Is there an association between T102C polymorphism of the serotonin receptor 2A gene and urinary incontinence? T102C polymorphism, 5-HT2A gene and urinary incontinence? **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v.40, p. 1315-1322, 2007.

SEMBA, R. D, et al. Oxidative stress is associated with greater mortality in older women living in the community. **Journal of the American Geriatrics Society**, v.55, n.9, p.1421-1425, 2007.

SEGMAN, R. H. et al. Association of dopaminergic and serotonergic genes with tardive dyskinesia in patients with chronic schizophrenia. **The Pharmacogenomics Journal** , v.3, p.277–283,2003.

SHIH, J C. et al. Molecular Biology of Serotonin (5-HT) Receptors. **BMC Developmental Biology**, v. 40(4), p.1053-8, 1991.

SHIMOKATA, H.; ANDO, F. Aging-related Genes. **Anti aging medicine**, v. 9, n.6, p. 185-191, 2012.

SILVA-JUNIOR J. B. As doenças transmissíveis no Brasil: tendências e novos desafios para o Sistema Único de Saúde. **Ministério da Saúde, ed. Saúde Brasil 2008: 20 anos de Sistema Único de Saúde (SUS) no Brasil**. Brasília: Ministério da Saúde, 2009.

SAMANI, N. J; VAN DER HARST, P. Biological ageing and cardiovascular disease. **Heart**, v. 94(5), v.537–539, 2008.

SPROTT, R. L. Biomarkers of aging and disease: introduction and definitions. **Exp Gerontol**, 45(1), v.2–4, 2010.

SYSLOVÁ, K ET AL. Multimarker Screening of Oxidative Stress in Aging. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, v. 2014, 2014.

SKVARILOVÁ, M. et al. Increased level of advanced oxidation products (AOPP) as a marker of oxidative stress in patients with acute coronary syndrome. **J Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub**, v.149(1), p.83-7, 2005.

SPARKES R. S, et al. Assignment of a serotonin 5HT-2 receptor gene (HTR2) to human chromosome 13q14-q21 and mouse chromosome 14. **Genomics**, v. 9, p.461-465,1991.

SPURLOCK, G. et al. .A family based association study of T102C polymorphism in 5HT2A and schizophrenia plus identification of new polymorphisms in the promoter. **Molecular Psychiatry**, v.3(1), p.42-9, 1998.

TAN, ENE-CHOO et al. Susceptibility to neuroleptic-induced tardive dyskinesia and the T102C polymorphism in the serotonin type 2A receptor. **Biological Psychiatry**, v. 50, p.144–147, 2001.

TURELL, L. et al. Oxidation of the albumin thiol to sulfenic acid and its implications in the intravascular compartment. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v.42, p.305-311, 2009.

TURLEJSKI., K. Evolutionary ancient roles of serotonin: long-lasting regulation of activity and Development . **Acta Neurobiology**, v.56, p. 619-636, 1996.

UZUN, D. et al. Oxidative damage parameters in renal tissues of aged and young rats based on gender. **Journal of Clinical Interventions in Aging**, v.8, p.809-15, 2013.
v.144, p.370–374, 2007.

VAN ZWIETEN, P. A. Pathophysiological Relevance of Serotonin. **Journal of Cardiovascular Pharmacology**, 1987.

VAQUERO, L. C. et al. Association between the T102C polymorphism of the serotonin-2A receptor gene and schizophrenia. **Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry**, v.30:30(6), p.1136-8, 2006.

VARGAS, H. O. et al. Oxidative stress and inflammatory markers are associated with depression and nicotine dependence. **Neuroscience Letters**, v. 544, p.136-140, 2013.

VERAS, R. Population aging today: demands, challenges and innovations. *Rev Saúde Pública*;43(3):548-54, 2009..

VENTURINI, D. et al.. Evaluation of oxidative stress in overweight subjects with or without metabolic syndrome. **Obesity**, v.(12), p.2361-2366, 2012.

WALTER, S. et al. A genome-wide association study of aging. **Neurobiology of Aging**, v. 32, p.2109-2115, 2011.

WALN, O.; JANKOVIC, J. An Update on Tardive Dyskinesia: From Phenomenology to Treatment. **Tremor and Other Hyperkinetic Movements**, v. 3, 2013.

WHITAKER-AZMITIA, P. M. Serotonin and brain development: Role in human developmental diseases. **Brain Research Bulletin**, v. 56 (5), p. 479 – 485, 2001.

WHITE, M. J. et al. Cigarette smoking in young adults: the influence of the HTR2A T102C polymorphism and punishment sensitivity. **Drug Alcohol Dependency**. v.1,114(2-3), p.140-6, 2011.

WILLIAMS, M. S. Platelets and depression in cardiovascular disease: A brief review of the current literature. **World Journal of Psychiatry**, v.2(6), p. 114–123, 2012.

WILLIAMS, G.C. Pleiotropy, natural selection and the evolution of senescence. **Evolution**, v.11, p.398–411, 1957.

WILLIAMS, J. et al. Meta-analysis of association between the 5-HT_{2a} receptor T102C polymorphism and schizophrenia. **Lancet**, v. 349, p.1221, 1997.

WILSON, D. et al..Family-based association analysis of serotonin genes in pathological gambling disorder: evidence of vulnerability risk in the 5HT-2A receptor gene. **Journal of Molecular Neuroscience**, v.49(3), p.550-3, 2013.

WIN, M., M. L. et al. Mood disorders and serotonin transporter density in ecstasy users—the influence of long-term abstinence, dose, and gender. **Psychopharmacology**, v.173, p. 376-382, 2004.

WITKO-SARSAT, V. et al. Advanced oxidation protein products as a novel marker of oxidative stress in uremia. **Kidney International – Nature**, v.49, p.1304-1313, 1996.

WITKO-SARSAT, V. et al. Advanced oxidation protein products as a novel molecular basis of oxidative stress in uraemia. **Nephrol Dial Transplant**, v. 14, p.76-78, 1999.

YAMADA, S. et al. T102C polymorphism of the serotonin (5-HT) 2A receptor gene in patients with non-fatal acute myocardial infarction . **Atherosclerosis**, v.150: 143–148, 2000.

YILDIZ, S. H., et al. Association of schizophrenia with T102C (rs6313) and 1438 A/G (rs6311) polymorphisms of HTR2A gene. **Acta Neuropsychiatry**, v. 25, p.342-8, 2013.

ZHAO, X., et al. Association of HTR2A T102C and A-1438G polymorphisms with susceptibility to major depressive disorder: a meta-analysis. **Neurological Science**, v.35, p.1857-66, 2014.

ZURAWSKA-PŁAKSEJ, E. et al. Oxidatively modified forms of albumin in patients with risk factors of metabolic syndrome. **Journal of Endocrinological Investigation**, v. 24, 2014.

ANEXO A- CARTA DE ACEITE ARTIGO 2

Gmail

ESCREVER

Entrada (650)
Enviados
Rascunhos (251)
Spam (403)
Círculos

De: onbehalfof+AJHB+anthro.umass.edu@manuscriptcentral.com <onbehalfof+AJHB+anthro.umass.edu@manuscriptcentral.com>

Enviado: terça-feira, 18 de outubro de 2016 18:58

Para: alexistrott@hotmail.com

Assunto: American Journal of Human Biology - Decision on Manuscript ID AJHB-

18-Oct-2016

Dear Dr. Trott,

Manuscript ID AJHB-16-0046.R1 entitled "ASSOCIATION BETWEEN T102C 5-HT2A POPULATION" that you re-submitted to the American Journal of Human Biology in of some minor considerations asked by reviewers.

If you care to undertake a further revision of your manuscript in the light of these

Please note that submitting a revision of your manuscript does not guarantee ever

You can upload your revised manuscript and submit it through your Author Center. title listed under "Manuscripts with Decisions."

When submitting your revised manuscript, you will need to respond point-by-point each reviewer comment and to document any changes you have made to the origi

IMPORTANT: We have your original files. When submitting (uploading) your revis

Once again, thank you for submitting your manuscript to the American Journal of H

Sincerely,

Dr. Lynnette Leidy Sievert
Editor-in-Chief
American Journal of Human Biology
leidy@anthro.umass.edu

Ivana Beatrice Manica da Cruz, MSc, PhD
Professora Associada -UFSM
Coordenadora Programa de Pós-Graduação em Gerontologia-UFSM