



***Investigação de Alterações Respiratórias Subclínicas em Idosos com
Diabetes Tipo 2: Análise de Marcadores Bioquímicos e Neuroendócrinos***

Proponente: Prof. Dr. Maysa Alves Rodrigues Brandão Rangel

Supervisoras: Profa. Dra. Tatiana de Sousa da Cunha Uchiyama

Profa Dra Karina Rabello Casali

Instituição: Universidade Federal de São Paulo

Departamento: Programa de pós-graduação em Engenharia Biomédica -Instituto de
Ciência e Tecnologia

Março/2025

Resumo:

O envelhecimento populacional e a alta prevalência de diabetes mellitus tipo 2 (DM2) estão associados a um aumento nas complicações respiratórias subclínicas, as quais podem passar despercebidas até que se manifestem clinicamente. Este projeto investiga as alterações respiratórias subclínicas em idosos com DM2, analisando marcadores bioquímicos e neuroendócrinos que podem estar envolvidos no comprometimento da função pulmonar. O estudo avaliará a função respiratória por meio de espirometria e oscilometria de impulso, além da análise de biomarcadores como o sistema renina-angiotensina-aldosterona, catecolaminas, estresse oxidativo e fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF). Serão recrutados 120 idosos, divididos em dois grupos: portadores de DM2 e grupo controle sem diabetes. A pesquisa busca identificar padrões de alterações subclínicas, correlacionando dados funcionais e bioquímicos para o desenvolvimento de potenciais biomarcadores preditivos. A integração de técnicas avançadas, incluindo aprendizado de máquina, permitirá uma análise mais precisa das interações metabólicas e pulmonares, auxiliando na formulação de estratégias preventivas e terapêuticas. Os achados poderão contribuir para a melhoria do manejo clínico de idosos com DM2, promovendo a detecção precoce de disfunções respiratórias e a otimização de protocolos de cuidado. Além disso, espera-se que os resultados desta pesquisa impactem a formulação de políticas públicas voltadas ao envelhecimento saudável, com foco na prevenção de complicações respiratórias associadas a doenças metabólicas.

Palavras chaves: Diabetes Mellitus Tipo 2, Função Pulmonar, Estresse Oxidativo, Sistema Renina-Angiotensina e envelhecimento

Abstract:

Population aging and the high prevalence of type 2 diabetes mellitus (T2DM) are associated with an increase in subclinical respiratory complications, which may go unnoticed until they manifest clinically. This project investigates subclinical respiratory alterations in older adults with T2DM, analyzing biochemical and neuroendocrine markers that may be involved in pulmonary function impairment. The study will assess respiratory function through spirometry and impulse oscillometry, as well as analyze biomarkers such as the renin-angiotensin-aldosterone system, catecholamines, oxidative stress, and brain-derived neurotrophic factor (BDNF). A total of 120 older adults will be recruited and divided into two groups: individuals with T2DM and a control group without diabetes. The research aims to identify patterns of subclinical alterations by correlating functional and biochemical data for the development of potential predictive biomarkers. The integration of advanced techniques, including machine learning, will allow for a more precise analysis of metabolic and pulmonary interactions, aiding in the formulation of preventive and therapeutic strategies. The findings may contribute to improving the clinical management of older adults with T2DM by promoting early detection of respiratory dysfunctions and optimizing care protocols. Furthermore, the results of this research are expected to influence public health policies aimed at healthy aging, with a focus on preventing respiratory complications associated with metabolic diseases.

Keywords: Type 2 Diabetes Mellitus, Pulmonary Function, Oxidative Stress, Renin-Angiotensin System, Aging.

1. Introdução

O envelhecimento da população é um fenômeno global que coloca pressão constante nos sistemas de saúde em todo o mundo, exigindo um melhor foco nas condições subclínicas que raramente são levantadas, embora não afetem apenas a qualidade de vida, mas também a predestinação das doenças¹. No Brasil, o envelhecimento da população ocorre a um ritmo acelerado, principalmente devido às mudanças demográficas observadas nas últimas décadas, com a queda da taxa de natalidade em associação com um aumento da expectativa de vida². A população idosa, ou seja, pessoas com 60 anos ou mais, representava cerca de 10% da população total em 2010 e está programada para chegar a 25,5% até 2060^{1, 2}. Esta mudança dramática traz consigo desafios econômicos e sociais, mas principalmente públicos, relacionados à saúde. A carga de doenças crônicas e incapacidades, associadas ao envelhecimento, é, portanto, uma pressão significativa sobre os gastos com saúde no Brasil². O SUS está incapacitado devido ao fato de ter um aumento constante nos custos associados ao tratamento de doenças crônicas não transmissíveis³, que incluem hipertensão, diabetes e doenças respiratórias e cardiovasculares altamente prevalentes entre os idosos³. Supõe-se que as pessoas com 60 anos ou mais gastem de 2 a 3 vezes mais com a saúde em comparação com outras faixas etárias. Desta forma, é urgente implementar estratégias eficazes de prevenção e detecção precoce dessas condições, uma vez que as medidas preventivas são mais custo-efetivas em comparação com as terapias avançadas³. As alterações subclínicas respiratórias entre os idosos estão ganhando interesse hoje devido à sua influência na vulnerabilidade a complicações respiratórias e cardiovasculares, bem como na saúde em geral⁴. De fato, as alterações, frequentemente associadas a doenças crônicas, como diabetes tipo 2, são um elo crítico entre a fisiologia, os processos metabólicos, neuroendócrinos e também pulmonares, e como tal é imperativo realizar uma investigação mais aprofundada.

O Diabetes Mellitus Tipo 2 (DM2), um dos distúrbios metabólicos mais comuns, é causado por uma combinação de dois fatores primários: secreção defeituosa de insulina pelas células β pancreáticas e a incapacidade dos tecidos sensíveis à insulina de responder adequadamente à insulina. Como a liberação e a atividade da insulina são processos essenciais para a homeostase da glicose, os mecanismos moleculares envolvidos na síntese e liberação de insulina, bem como em sua detecção, são rigorosamente regulados. Defeitos em qualquer um dos mecanismos envolvidos nesses processos pode levar a um desequilíbrio metabólico responsável pelo desenvolvimento da doença⁵. A DM2 é uma das doenças metabólicas que mais ocorrem com o envelhecimento; combinando a resistência periférica à insulina com perda de função de secreção de células beta e inflamação sistêmica de grau crônico^{4,5}. A fisiopatologia do DM2 nos idosos é ampliada por transformações intrínsecas do envelhecimento, como a redução da massa e função muscular, disfunções mitocondriais e agravamento do estresse oxidativo, além da imunossenescência⁶. Em razão disso, essas mudanças levam a um plano descendente de eventos em níveis moleculares e celulares que a fazem se opor à saúde pulmonar⁷. Na perspectiva molecular, a fisiopatologia celular do diabetes mellitus tipo 2 (DM2) em populações idosas é caracterizada por um complicado conjunto de modificações metabólicas que, de forma sistêmica e contínua, são redistribuídas por todo o organismo. No cenário do envelhecimento, o DM2 é caracterizado pela disfunção do metabolismo da glicose e dos lipídios, principalmente devido à resistência à insulina nos principais tecidos-alvo, como músculo esquelético, tecido adiposo e fígado⁹. Além disso, esse estado metabólico é mediado por grandes alterações em vias moleculares fundamentais, como disfunção da via de insulina e da modulação inadequada da proteína quinase ativada por AMP cíclico⁹. Em adição, a ativação patológica do sistema renina-angiotensina-aldosterona (SRAA) tem sido proposta como um mediador de espécie reativa de oxigênio

em interação com a via insulinêmica¹⁰. Nesse sentido, o SRAA exerce uma possível ação deletéria adicional no sistema respiratório, induzindo processos de fibroses e mimetizando processos inflamatórios crônicos mais proeminentes nas vias aéreas¹⁰. Portanto, a hiperglicemia persistente, a formação de glicação avançadas (AGEs), a ativação mediada pelo SRAA e eixo renina-angiotensina podem intensificar essas respostas inflamatórias e a regeneração prejudicada do tecido pulmonar, contribuindo assim para o desenvolvimento imperceptível de disfunção respiratória¹¹. Como tal, é necessário estudar alvos terapêuticos que modifiquem estas rotas nos idosos. Ainda na visão molecular, o DM2 está associado a uma profunda produção de estresse oxidativo, resultando na degradação do DNA, proteínas e lipídios¹²; uma vez ativado o sistema de estresse oxidativo, o mesmo desencadeia um ciclo vicioso de inflamação crônica de baixo grau, incluindo um aumento do fator de transcrição NF- κ B e citocinas pró-inflamatórias, como IL6 e TNF¹². Essa condição, em relação ao pulmão, possivelmente seletivamente propensa à regeneração celular, à remodelagem das vias aéreas e à ativação do alvéolo, pode impactar a ventilação e a troca gasosa, mesmo na ausência de manifestações clínicas aparentes¹³. No entanto, no envelhecimento, as alterações associadas ao DM2 são ainda exacerbadas por alterações fisiológicas naturais, como redução da elasticidade pulmonar e da força muscular respiratória, bem como redução da resposta imune inata e adaptativa¹³. Esses fatores contribuem para o desenvolvimento de alterações respiratórias subclínicas, um estado intermediário muitas vezes subdiagnosticado, mas que pode preceder complicações graves, como insuficiência respiratória ou exacerbações de condições cardiovasculares. Sob essa luz, meus estudos anteriores fornecem fortes evidências da interação entre condições metabólicas e função pulmonar em adultos mais velhos. O artigo "Physically Active Lifestyle Attenuates Impairments on Lung Function and Mechanics in Hypertensive Older Adults" destaca que os idosos hipertensos

apresentam aumento da broncoconstrição, comprometimento respiratório funcional e função da mecânica pulmonar comprometida, mas isso pode ser atenuado por um estilo de vida fisicamente ativo. Esses achados sugerem que o mau funcionamento vascular e inflamatório crônico de baixo grau relacionado à hipertensão está intimamente ligado à função pulmonar – questão enfatizada no artigo da FAPESP "Pressão alta reduz capacidade respiratória devido ao enrijecimento dos brônquios, aponta estudo". O artigo da FAPESP resultou em pelo menos mais três reproduções de reportagem nacional: Na Revista Época Negócios: publicado em 21 de outubro de 2024.

<https://epocanegocios.globo.com/ciencia-e-saude/noticia/2024/10/pressao-alta-reduz-capacidade-respiratoria-devido-ao-enrijecimento-dos-bronquios-aponta-estudo.ghtml>.

Revista O Progresso: publicada em 27 de outubro de 2024.

<https://www.progresso.com.br/sociedade/saude/pressao-alta-reduz-capacidade-respiratoria-devido-ao-enrijecimento-dos/431109>

Revista Veja Saúde: publicado em 21 de outubro de 2024. <https://veja.abril.com.br/saude/tem-pressao-alta-cuidado-com-seus-pulmoes-alerta-estudo>.

Somando um total estimado de 1,01 milhão de leitores através da estimativa de leituras e acessos das 3 revistas. Além disso, o artigo “Pulmonary Function Changes in Older Adults with and without Metabolic Syndrome” mostrou que a síndrome metabólica está associada a alterações significativas na função pulmonar, que incluem redução do VEF1, CVF e da resposta imunológica. O artigo, de relevância internacional e vencedor de prêmios na European Respiratory Society em Paris em 2018 também ganhou destaque na revista FAPESP, “Síndrome metabólica prejudica função pulmonar e resposta imunológica em idosos, constata estudo”, na qual reforça a hipótese de condições metabólicas impactarem na saúde respiratória do idoso, levantando hipóteses de mediadores inflamatórios e estresse oxidativo. A mesma resultou em mais 4 reportagens na área de circulação nacional: Veja Saúde

https://saude.abril.com.br/medicina/sindrome-metabolica-afeta-pulmoes-dos-idosos#google_vignette. , Portal da Unifesp <https://dci.unifesp.br/assessoria-de-imprensa-e-jornalismo/releases/r-pesquisa-da-unifesp-comprova-alteracoes-pulmonares-e-imunologicas-em-idosos-com-sindrome-metabolica> , Saense <https://saense.com.br/2022/01/sindrome-metabolica-prejudica-funcao-pulmonar-e-resposta-imunologica-em-idosos-constata-estudo> e R7 Notícias <https://noticias.r7.com/saude/sindrome-metabolica-prejudica-funcao-pulmonar-em-idosos-19012022>. na qual, a reportagem pode ter atingido aproximadamente 1,335 milhão de leitores.

O presente projeto propõe uma investigação inovadora e profunda dos mecanismos bioquímicos e neuroendócrinos por trás das alterações respiratórias subclínicas observadas em idosos com diabetes mellitus tipo 2. A análise de marcadores críticos, incluindo, entre outros, o sistema renina-angiotensina-aldosterona, catecolaminas e estresse oxidativo, além do fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF), revelará essas vias biológicas. Essa abordagem integradora de grupos de envelhecimento, metabólico e funcional baseados em um único modelo de doença não apenas melhorará a compreensão científica, mas também abrirá caminho para a intervenção personalizada precoce. Com a população idosa e frágil em mente, há esperança de transformar práticas clínicas e otimizar a saúde pública.

2- Objetivo Geral: Investigar as alterações respiratórias subclínicas em idosos com diabetes tipo 2, analisando os marcadores bioquímicos e neuroendócrinos relacionados ao comprometimento da função pulmonar e sua associação com mecanismos metabólicos e inflamatórios.

2.1 Objetivos específicos:

- Caracterizar alterações na função respiratória em idosos com diabetes mellitus tipo 2
- Analisar parâmetros de função e mecânica pulmonar: volume expiratório forçado no primeiro segundo – VEF1, capacidade vital forçada – CVF e a razão VEF1/CVF,
- Avaliar a mecânica respiratória através da oscilometria de impulso – resistência das vias aéreas - R5 e R20; reatância – X5; e área de complacência pulmonar – AX e possíveis padrões de comprometimento respiratório subclínico;
- Analisar marcadores bioquímicos associados com o sistema renina-angiotensina-aldosterona, níveis plasmáticos de angiotensina II; aldosterona e renina e a correlação com parâmetros de função mecânica pulmonar e resistência insulínica.
- Investigar o estresse oxidativo e inflamação sistêmica na função pulmonar de idosos com diabetes mellitus tipo 2.
- Avaliar níveis de citocinas pró-inflamatórias, como TNF- α , IL-6 e PCR.
- Avaliar alterações neuroendócrinas relacionadas ao diabetes tipo 2 e ao envelhecimento
- Analisar níveis de catecolaminas e cortisol como indicadores de resposta ao estresse e quantificar o fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF) e sua relação com a função pulmonar e o controle glicêmico.

-Correlacionar os dados moleculares e funcionais para identificar padrões específicos de alterações subclínicas respiratórias em idosos com diabetes tipo 2:

Construir modelos integrativos que associem alterações bioquímicas, neuroendócrinas funcionais e mecânicos.

Identificar potenciais biomarcadores preditivos de comprometimento respiratório subclínico.

-Propor estratégias preventivas e terapêuticas baseadas nos achados do estudo:

Sugerir intervenções voltadas para o manejo precoce das alterações respiratórias subclínicas em idosos com diabetes tipo 2.

Desenvolver recomendações que integrem os cuidados respiratórios à abordagem multidisciplinar do diabetes e do envelhecimento.

3-Metodologia

3.1-População: Serão recrutados os 120 idosos pacientes do ambulatório de geriatria e de endocrinologia da Universidade Anhembi Morumbi (CIS) Centro Integrado de Saúde, localizado na rua Álvares de Azevedo, 100 - Vila Betania, São José dos Campos - SP, 12245-494. Todas as avaliações e coletas de dados da pesquisa ocorrerão exclusivamente no Centro Integrado de Saúde (CIS) da Universidade Federal de São Paulo – Campus São José dos Campos. Cada participante será convidado a comparecer ao CIS em duas ocasiões, previamente agendadas:

Primeira visita: será realizada a coleta de sangue, aferição de pressão arterial e os exames respiratórios, incluindo espirometria e outros testes previstos no protocolo.

Segunda visita: ocorrerão os demais testes físicos e/ou entrevistas complementares necessários à finalização das avaliações.

As duas visitas serão programadas de acordo com a disponibilidade do participante, garantindo o menor impacto possível em suas atividades diárias. Todas as etapas serão realizadas no próprio CIS, não havendo necessidade de deslocamento para outros locais.

Ajuda de custo: Em conformidade com a Resolução CNS nº 466/2012 (item IV.3.g) e Resolução CNS nº 510/2016 (Art. 9º, VII), todos os participantes receberão ressarcimento integral dos custos com transporte e alimentação decorrentes da participação na pesquisa.

O valor do ressarcimento será acordado previamente com cada participante, considerando despesas médias locais e apresentando comprovantes quando aplicável. Essa medida visa garantir que nenhum voluntário tenha qualquer gasto pessoal para participar.

Esses valores estão previstos no orçamento do projeto e serão integralmente custeados pela equipe de pesquisa.

Os participantes, incluindo o grupo controle, serão recrutados por meio de mídias sociais digitais, com divulgação realizada através das redes da equipe de pesquisa (ex.: Instagram, Facebook e WhatsApp). Será utilizado um texto de recrutamento claro, objetivo e em linguagem acessível, contendo as principais informações da pesquisa, critérios de inclusão e formas de contato para que os interessados possam obter esclarecimentos antes de manifestar interesse em participar.

Esclarecemos que nenhum dado será coletado ou armazenado durante o processo de recrutamento, e a participação será inteiramente voluntária. Após o primeiro contato, os interessados serão informados sobre todos os aspectos do estudo, conforme o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE), antes de qualquer procedimento de inclusão. Segue abaixo o texto de divulgação para análise e aprovação deste Comitê.

Participe de uma pesquisa da UNIFESP!

Você tem entre 60 a 90 anos e deseja contribuir com a ciência? Estamos realizando um estudo sobre Diabetes do tipo 2 e alterações respiratórias, buscamos voluntários para participar.

Quem pode participar:

Critérios para participar: ter ou não Diabetes do tipo 2, idade de 60 a 90 anos, Não ser fumante ativo ou histórico de uso de cigarro superior a 10 anos-maço.

Doenças respiratórias conhecidas, como DPOC ou asma.

Infecções respiratórias recentes (<4 semanas).

Uso de medicamentos imunossupressores ou corticosteroides.

A participação é voluntária e consiste em:

Exames de sangue, questionários e entrevistas.

Visitas em 2 únicos encontros para avaliação e outro para coleta de sangue.

 Todos os dados serão confidenciais e seu anonimato será garantido.

 A pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética da UNIFESP número

 Para mais informações ou para participar, entre em contato pelo WhatsApp 12-997281829 ou Instagram @maysarangel.

3.2 Seleção da Amostra:

-Critérios de inclusão:

Idosos (≥ 60 anos) diagnosticados com DM2 conforme os critérios da ADA.

Capacidade de realizar exames respiratórios e coleta de amostras biológicas.

-Critérios de exclusão:

Tabagismo ativo ou histórico de tabagismo superior a 10 anos-maço.

Doenças respiratórias conhecidas, como DPOC ou asma.

Infecções respiratórias recentes (< 4 semanas).

Uso de medicamentos imunossupressores ou corticosteroides.

A amostra será dividida em dois grupos:

Grupo DM2: Idosos com diagnóstico de DM2.

Grupo controle: Idosos sem DM2 e sem comorbidades significativas.

Estima-se um tamanho amostral inicial de 120 indivíduos, 60 por grupo, calculado com base em análises de potência estatística (80% de poder, alfa de 5%).

3.3-Avaliação da Função e Mecânica Pulmonar

- Espirometria:

Realização de testes para medir parâmetros como VEF1, CVF e relação VEF1/CVF, seguindo os critérios da American Thoracic Society (ATS).

- Oscilometria de Impulso:

Avaliação da mecânica respiratória com medidas de resistência das vias aéreas (R5 e R20), reactância (X5) e área de complacência pulmonar (AX).

3.4-Avaliação da Qualidade de Vida com o SF-36

Objetivo: Avaliar a percepção dos participantes sobre sua qualidade de vida, correlacionando esses dados com os parâmetros funcionais e moleculares.

Aplicação: O instrumento SF-36, validado para a população brasileira, será utilizado e foi ANEXADO à submissão conforme orientação da CONEP. O SF-36 será aplicado durante a consulta inicial, antes da realização dos exames funcionais e da coleta de amostras biológicas.

Componentes Avaliados: O questionário mede oito domínios da saúde:

1. Capacidade funcional.
2. Limitações físicas.
3. Dor.
4. Estado geral de saúde.
5. Vitalidade.
6. Aspectos sociais.
7. Limitações emocionais.
8. Saúde mental.

Análise dos Dados:

Os escores de cada domínio serão calculados e normalizados em uma escala de 0 a 100, onde valores mais altos indicam melhor qualidade de vida.

Comparações entre os grupos DM2 e controle serão realizadas para identificar diferenças significativas na percepção de saúde.

Análises de correlação serão conduzidas para explorar associações entre os escores do SF-36 e os parâmetros funcionais (VEF1, CVF, CVF/FV1) e bioquímicos (SRAA, estresse oxidativo, inflamação).

3.5.-Avaliação da Pressão Arterial Sistêmica

A pressão arterial sistólica e diastólica serão aferidas em dois momentos distintos pelo mesmo avaliador. No 10 e 15 minuto em repouso, sendo adotado média destes valores como a medida da pressão arterial em repouso. A medida da pressão arterial sistêmica seguirá as recomendações das *VI Diretrizes Brasileiras de Hipertensão Arterial*.

3.6-Coleta de Sangue e Avaliação dos Parâmetros Bioquímicos

Uma amostra de sangue total (15mL) será obtida periodicamente por punção venosa e colhida em tubos à vácuo, sendo um tubo seco (5ml), um tubo contendo heparina (5ml) e um tubo contendo EDTA. A amostra será adequadamente identificada (nome do paciente e data de colheita) e armazenada a -20°C até o momento das avaliações. A coleta será feita pela médica responsável do Centro Integrado de Saúde Profa Dra Paula Vilhena Carnevale Vianna. O material biológico será analisado no laboratório de Fisiologia da profa Dra Tatiana de Sousa da Cunha Uchiyama no Campus ICT-UNIFESP-Talim São José dos Campos.

O material biológico coletado será utilizado apenas neste estudo. Ele ficará armazenado sob a responsabilidade do pesquisador responsável (coordenador do estudo), sendo este também responsável pela autorização do uso do material. Condições de armazenamento: Amostras de soro/plasma serão armazenadas em freezer a -80 °C.

Tempo de armazenamento antes das análises: As amostras serão analisadas em até 60 dias após a coleta. Durante esse período, todas as amostras permanecerão identificadas apenas por código alfanumérico, garantindo o sigilo dos participantes. Controle de acesso: O acesso ao material biológico será restrito aos pesquisadores responsáveis e equipe treinada, conforme consta no TCLE e protocolo aprovado.

O soro será aliquotado e utilizado para as dosagens das citocinas IL-1beta, IL-1ra, IL-6, IL-8, IL-10, IL-17, IL-23, IL-33 TNF-alfa e BDNF.

Biorepositório: De acordo com a Resolução CNS nº 441/2011, Art. 1º, item II, define-se biorepositório como uma coleção de material biológico humano coletado e armazenado

ao longo da execução de um projeto de pesquisa específico, conforme regulamentos ou normas técnicas, éticas e operacionais pré-estabelecidas, sob responsabilidade institucional e gerenciamento do pesquisador, sem fins comerciais.

Intenção da coleta

Os materiais biológicos serão coletados exclusivamente para a pesquisa intitulada "Investigação de Alterações Respiratórias Subclínicas em Idosos com Diabetes Tipo 2: Análise de Marcadores Bioquímicos e Neuroendócrinos", permanecendo armazenados durante todo o período de execução do estudo.

Prazo de armazenamento: Enquanto durar a pesquisa.

Propriedade das amostras: Pesquisadores responsáveis:

Profa. Dra. Tatiana de Sousa da Cunha Uchiyama — ts.cunha@unifesp.br

Profa. Dra. Karina Rabello Casali — rabello.casali@unifesp.br

Pesquisadora assistente:

Profa. Dra. Maysa Alves Rodrigues Brandão Rangel — maysa.rangel@unifesp.br

Responsabilidade pela guarda do material biológico

Instituição: Instituto de Ciência e Tecnologia (ICT) / UNIFESP — Departamento de Ciência e Tecnologia

Chefe do Departamento: Prof. Dr. Marcelo Cristino Gama — mgama@unifesp.br

Local de armazenamento (biorrepositório)

Endereço: Rua Talim, 330, Vila Nair, São José dos Campos — SP, CEP 12231-280

Telefone: (11) 3385-4100, ramal 9697

Intenção de armazenamento após o processamento do material biológico: Não se aplica.

Destino do material biológico após as análises

Após a conclusão de todas as análises previstas no protocolo, o material biológico será descartado de forma segura, conforme as normas de biossegurança e o protocolo institucional de gerenciamento de resíduos biológicos. O descarte será realizado por profissionais habilitados, seguindo a RDC nº 222/2018 da ANVISA. Intenção de

armazenamento após processamento do material biológico (se houver armazenamento) :
 Não se aplica Destino do material após as análises: Após a finalização de todas as análises previstas no protocolo, o material biológico será descartado de forma segura, seguindo as normas de biossegurança e o protocolo institucional de gerenciamento de resíduos biológicos. O descarte será realizado por profissionais habilitados, conforme estabelecido na RDC nº 222/2018 da Anvisa.

3.7-Análises Bioquímicas e Neuroendócrinas

Determinação da Concentração Plasmática de Catecolaminas

O plasma (200 µL) será submetido à purificação utilizando 50 mg de alumina (Al₂O₃), tampão TRIS (pH 8,6) e 40 µL (8 ng) de DHBA (padrão interno). As catecolaminas purificadas serão eluídas com 400 µL de ácido perclórico 0,1 M. O sobrenadante será centrifugado a 10.000 rpm e filtrado (0,22 µm). As amostras serão injetadas em uma coluna de fase reversa (Cavalheiro et al., 1994; Di Marco et al., 2003), e as catecolaminas serão separadas utilizando um par iônico acoplado com detecção eletroquímica (0,5 V). A separação isocrática será obtida por meio de uma coluna Spheri-5 ODS 5 µm. O sistema de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC) consistirá em uma bomba (modelo LC-10 ADVP- Shimadzu), detector eletroquímico (modelo L-ECD-6A- Shimadzu), injetor automático (SIL-20AC- Shimadzu), coluna 5 µm (4,6 x 250 mm) e pré-coluna RP 18, 7 µm (15 x 3,2 mm). As aminas biogênicas serão separadas por eluição isocrática, com fluxo de 0,8 mL/min durante aproximadamente 25 min. A fase móvel será composta de fosfato de sódio 0,02 M (Merck Millipore, Darmstadt, Alemanha), citrato de sódio 0,02 M (Merck Millipore, Darmstadt, Alemanha), EDTA 0,12 mM (Merck Millipore, Darmstadt, Alemanha), heptano sulfônico 566 mg/L (Sigma-Aldrich, EUA) e metanol (LiChrosolv®, Merck Millipore, Darmstadt, Alemanha) 10 %, com ajuste do pH para 2,53 utilizando ácido perclórico a 50 % (Merck Millipore, Darmstadt, Alemanha). Para cálculo da concentração, será utilizada a seguinte fórmula:
$$Pg \ A/mL = \left(\frac{PsA}{PsDHBA} \right) \times \text{quantidade do padrão} \times \text{fator de diluição} \div \left(\frac{PstA}{PstDHBA} \right)$$

Onde:

- **A** = amina

- ****PsA**** = área do pico da amina na amostra
- ****PstA**** = área do pico da amina no padrão
- ****PsDHBA**** = área do pico do DHBA na amostra
- ****PstDHBA**** = área do pico de DHBA no padrão

O DHBA será utilizado como padrão interno de extração para cálculo da recuperação nos tempos de retenção esperados. As concentrações das catecolaminas serão expressas em pg/dL.

3.8-Integração de Dados Moleculares, Funcionais e de Qualidade de Vida

O questionário SF-36 será integrado ao banco de dados junto aos parâmetros funcionais e bioquímicos.

Modelos estatísticos e de aprendizado de máquina serão utilizados para identificar padrões que associem marcadores biológicos e funcionais com a qualidade de vida percebida.

3.9- Atividade circulante da ECA

A atividade da ECA no soro será determinada fluorimetricamente, como descrito por Friedland e Silverstein (1976) utilizando os substratos Hippuryl-His-Leu-OH (HHL) e Z-Phe-His-Leu-OH (ZPhe-HL) (Bachem Bioscience Inc., EUA) diluídos em tampão borato 0,5 M, NaCl 1,5 M, pH 8,3. A utilização dos dois substratos permite verificar se há diferença entre os domínios ativos da ECA, já que o substrato ZPhe-HL, é hidrolisado de forma similar tanto pelo sítio C-domínio quanto pelo N-domínio, enquanto que o HHL tem maior eficiência de hidrólise pelo sítio C-domínio que pelo N-domínio, já que a hidrólise desse substrato é nove vezes mais rápida pelo sítio C (DANILOV et al., 1994). As amostras serão incubadas a 37°C com 200 µL do substrato ZPhe-HL 1mM ou HHL 5mM, sendo a reação enzimática interrompida com 1,5 mL de hidróxido de sódio 0,28 N. O dipeptídeo His-Leu liberado acopla-se ao marcador fluorescente ortoftaldialdeído (Sigma Chemical CO., EUA) (20 mg/mL, em metanol), sendo a reação fluorimétrica interrompida, após 10 minutos, pela adição de 200 µL de ácido clorídrico 3 N. A seguir, a leitura da fluorescência (excitação: 360 nm; emissão: 500 nm) será realizada no espectrofluorímetro Tecan Infinite F200 (Männedorf, Suíça). A atividade enzimática será expressa em mU.min-1.mg-1 de proteína total.

3.10-Determinação da atividade da ECA2 circulante

A atividade da ECA2 no soro será determinada fluorimetricamente conforme protocolo descrito por Pedersen e colaboradores (2011), utilizando 10 μ M Mca-APK(Dnp)-OH (Biomol International, EUA) como substrato e pré-incubação com o inibidor DX600 10 μ M (Phoenix Pharmaceuticals, EUA). Após o período de incubação de 30 minutos a 37°C, a leitura será realizada em espectrofluorímetro Tecan Infinite F200 (Männedorf, Suíça) (excitação: 320 nm; emissão: 420 nm). A medida de fluorescência, dada em unidades arbitrárias, será registrada para posterior cálculo, e os resultados de atividade enzimática específica expressos em μ M.min-1.mg-1 de proteína total será calculada pela subtração da atividade apresentada no ensaio na ausência e presença do inibidor DX600.

3.11- Integração de Dados Moleculares, Funcionais e de Qualidade de Vida

O questionário SF-36 será integrado ao banco de dados junto aos parâmetros funcionais e bioquímicos.

Modelos estatísticos e de aprendizado de máquina serão utilizados para identificar padrões que associem marcadores biológicos e funcionais com a qualidade de vida percebida.

Aqui está um possível texto para a seção de ****Riscos e Benefícios**** do projeto, adequado para submissão na Plataforma Brasil:

3.12- Riscos e Benefícios

Riscos:

Os riscos deste estudo são mínimos e estão relacionados principalmente aos procedimentos de coleta de sangue e testes respiratórios, incluindo:

1. Coleta de sangue: Pode causar desconforto leve, hematomas no local da punção e, raramente, tontura ou desmaios. Para minimizar esses riscos, a coleta será realizada por

profissionais treinados, utilizando técnicas assépticas. Caso o participante apresente mal-estar, será orientado a repousar e receberá assistência até completa recuperação.

2. Espirometria e Oscilometria de Impulso: A espirometria requer esforço expiratório, o que pode causar leve tontura ou sensação de falta de ar temporária em alguns participantes. A oscilometria de impulso é um exame não invasivo e de baixo risco. Todos os testes serão conduzidos por profissionais capacitados, garantindo a segurança dos participantes.

3. Aferição da pressão arterial: A compressão temporária do manguito pode causar leve desconforto, mas sem riscos significativos.

4. Riscos psicológicos: A aplicação do questionário SF-36 pode despertar desconforto emocional ao abordar aspectos da qualidade de vida. Caso o participante manifeste qualquer desconforto, ele poderá interromper sua participação no estudo a qualquer momento.

5. Confidencialidade e privacidade: Todas as informações coletadas serão armazenadas de forma segura e sigilosa, garantindo a privacidade dos participantes. Os dados serão codificados e analisados sem identificação pessoal.

Benefícios:

1. Contribuição para o conhecimento científico: O estudo poderá identificar marcadores precoces de disfunções respiratórias em idosos com DM2, possibilitando avanços no diagnóstico e na prevenção dessas alterações.

2. Potenciais benefícios clínicos: Embora os participantes não recebam benefícios diretos, os achados do estudo poderão contribuir para a melhoria do manejo clínico de idosos com DM2, permitindo estratégias de intervenção precoce.

3. Monitoramento da saúde: Os participantes terão acesso aos resultados de suas avaliações funcionais e bioquímicas, podendo utilizá-los para acompanhamento médico.

4. Impacto em políticas públicas: A pesquisa pode subsidiar diretrizes voltadas à promoção da saúde respiratória em idosos diabéticos, contribuindo para ações preventivas e melhoria da qualidade de vida dessa população.

A participação no estudo é voluntária, e os participantes podem se retirar a qualquer momento sem prejuízo ao seu atendimento médico.

Responsabilidade financeira pelos procedimentos da pesquisa:

Em conformidade com a Resolução nº 466/2012 do Conselho Nacional de Saúde (CNS), que estabelece diretrizes e normas regulamentadoras para pesquisas envolvendo seres humanos, esclarecemos que nenhum custo decorrente da realização da pesquisa será repassado aos participantes ou ao Sistema Único de Saúde (SUS).

Todos os procedimentos previstos no protocolo — incluindo coleta de sangue, aferição de pressão arterial e exames respiratórios (como espirometria) — serão integralmente custeados pela equipe de pesquisa, seja por meio de recursos institucionais, financiamentos específicos ou parcerias previamente estabelecidas. Os participantes não arcarão com nenhuma despesa relacionada à participação no estudo, direta ou indiretamente.

Além disso, a logística da pesquisa foi planejada de modo a concentrar todas as avaliações em duas visitas únicas ao Centro Integrado de Saúde (CIS) da UNIFESP – Campus São José dos Campos, reduzindo deslocamentos e eventuais custos indiretos aos voluntários. Caso, em situações excepcionais, haja necessidade de apoio financeiro adicional (como transporte para participantes com dificuldade de locomoção), este será providenciado pela equipe de pesquisa, sem repasse de ônus aos participantes ou ao SUS. O encaminhamento será feito com responsabilidade ética, respeitando o sigilo das informações obtidas e garantindo o cuidado adequado ao voluntário.

Ao final da coleta e análise dos dados, será realizada a devolutiva dos resultados individuais e gerais da pesquisa aos participantes, conforme descrito abaixo:

Resultados individuais:

Cada participante que desejar poderá receber, por e-mail ou presencialmente, um resumo dos principais achados relacionados à sua participação (ex.: dados clínicos, fisiológicos ou de questionários, conforme o caso). Essa devolutiva será realizada de forma clara, respeitosa e compreensível, acompanhada de orientações, se necessário, quanto à busca por acompanhamento profissional.

Resultados gerais da pesquisa:

Um resumo dos resultados globais da pesquisa será elaborado em linguagem acessível e disponibilizado a todos os participantes por meio de um informativo eletrônico (e-mail ou WhatsApp), ou disponibilizado presencialmente no local de realização do estudo. Esse material apresentará os principais achados científicos, preservando o anonimato de todos os voluntários.

A devolução será realizada após a conclusão da análise dos dados, prevista para o 12/2027, e contará com o apoio da equipe da pesquisa para esclarecimento de dúvidas.

4-Análise Estatística

Comparações entre os grupos DM2 e controle serão realizadas por testes t de Student ou Mann-Whitney para variáveis contínuas e pelo teste do qui-quadrado para variáveis categóricas. Correlações entre variáveis serão analisadas pelo coeficiente de correlação de Pearson ou Spearman, conforme a normalidade dos dados.

Comparação dos escores do SF-36 entre os grupos será realizada utilizando testes t de Student ou Mann-Whitney, dependendo da normalidade dos dados.

Correlações entre escores do SF-36 e variáveis bioquímicas e funcionais serão analisadas pelo coeficiente de correlação de Pearson ou Spearman.

Significância estatística será definida como $p < 0,05$.

5-Relevância do projeto para o desenvolvimento científico, tecnológico ou de inovação no país:

Este projeto apresenta uma abordagem pioneira ao investigar os mecanismos bioquímicos e neuroendócrinos que conectam o diabetes mellitus tipo 2 (DM2) às alterações respiratórias subclínicas em idosos, integrando ciência básica e aplicada. Ao explorar marcadores como o sistema renina-angiotensina-aldosterona (SRAA), estresse oxidativo e mediadores inflamatórios, a pesquisa visa esclarecer os processos que comprometem a saúde pulmonar nesse grupo vulnerável. Essa compreensão aprofundada permitirá a identificação de biomarcadores preditivos e a formulação de estratégias preventivas e personalizadas, com potencial para otimizar o manejo clínico e minimizar o impacto de complicações avançadas em um cenário de envelhecimento populacional. O uso de tecnologias de ponta, como a oscilometria de impulso e modelos de aprendizado de máquina, posiciona este estudo na vanguarda da inovação científica. Os resultados esperados têm o potencial de transformar a prática clínica ao fornecer dados robustos para novos protocolos de cuidado em idosos com DM2, beneficiando tanto a qualidade de vida dos pacientes quanto a sustentabilidade do sistema de saúde. Alinhado às prioridades de saúde pública no Brasil, este projeto é um passo estratégico na consolidação do país como referência em pesquisa translacional voltada para o envelhecimento saudável e a gestão de doenças metabólicas e respiratórias.

5-Cronograma de Execução: 2025 – 2027

Etapas	Atividades Principais	Meses
1. Planejamento e Preparação	- Obtenção de aprovações éticas (CEP/CONEP). - Recrutamento da equipe de trabalho. - Treinamento em técnicas laboratoriais e instrumentação.	1-3
2. Seleção e Recrutamento	- Divulgação do projeto e recrutamento dos participantes. - Aplicação de critérios de inclusão/exclusão. - Obtenção de consentimento informado.	4-6
3. Coleta de Dados	- Realização de espirometria e oscilometria de impulso. - Aplicação do questionário SF-36. - Coleta de amostras biológicas (sangue).	7-14
4. Análises Bioquímicas	- Quantificação de marcadores bioquímicos (SRAA, estresse oxidativo, citocinas, BDNF, catecolaminas e cortisol).	8-16
5. Análises Estatísticas	- Processamento e análise dos dados funcionais, bioquímicos e de qualidade de vida. - Modelagem estatística para identificação de padrões.	15-18
6. Integração e Interpretação	- Integração dos dados funcionais, bioquímicos e de qualidade de vida. - Discussão dos achados à luz das hipóteses iniciais.	19-21
7. Redação de Relatórios e Artigos	- Redação de artigos científicos para publicação em periódicos internacionais. - Elaboração do relatório final	22-23
8. Divulgação dos Resultados	- Apresentação dos resultados em congressos e eventos científicos. - Compartilhamento de achados com os participantes e comunidades envolvidas.	23-24

6-Disponibilidade efetiva de infraestrutura e de apoio técnico para o desenvolvimento do projeto

Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP)

Infraestrutura: A UNIFESP possui uma infraestrutura avançada em termos de laboratórios clínicos e de pesquisa médica, particularmente nas áreas de saúde respiratória e medicina preventiva. A universidade oferece centros de pesquisa especializados em pneumologia, com acesso a equipamentos de diagnóstico respiratório de última geração, como espirometria e laboratórios de função pulmonar.

Apoio Técnico: A UNIFESP conta com uma equipe de pesquisadores e clínicos altamente qualificados em doenças respiratórias crônicas, doenças endócrinas, incluindo pneumologistas, fisioterapeutas e cientistas com experiência em coleta e análise de dados clínicos. Esse apoio será essencial para a condução do ensaio clínico.

Centro Integrado de Saúde da Universidade Anhembi Morumbi (CIS) – São José dos Campos

Infraestrutura:

O CIS da Universidade Anhembi Morumbi, localizado em São José dos Campos, oferece uma infraestrutura moderna e integrada para a realização de atendimentos clínicos e pesquisas científicas com o apoio da prefeitura Municipal de SJC e atendimento 100% SUS. O centro conta com consultórios equipados para avaliação médica e laboratórios especializados para análises clínicas e funcionais, incluindo equipamentos avançados para a realização de espirometria e oscilometria de impulso. Além disso, há um suporte técnico adequado para coleta, processamento e armazenamento de amostras biológicas, garantindo a condução de estudos de alta qualidade em áreas como geriatria, endocrinologia e pneumologia.

Apoio Técnico:

O CIS dispõe de uma equipe multidisciplinar altamente qualificada, composta por médicos especialistas em geriatria, endocrinologia e pneumologia, além de fisioterapeutas e biomédicos com expertise em avaliação funcional respiratória e em análises laboratoriais. Este apoio técnico é complementado por profissionais treinados em pesquisa clínica, assegurando a aplicação de protocolos rigorosos para a coleta e análise de dados. A colaboração entre os especialistas do CIS e os pesquisadores envolvidos no projeto será crucial para alcançar os objetivos propostos, fornecendo uma base sólida para a execução das atividades de pesquisa.

7-Referências Bibliográficas

- 1- Beard, J. R., Officer, A., & de Carvalho, I. A. (2016). The World Report on Ageing and Health: A policy framework for healthy ageing. *The Lancet*, 387(10033), 2145–2154. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(16\)60536-X](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(16)60536-X).
- 2-Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. (2018). Projeção da população: Revisão 2018. IBGE. <https://www.ibge.gov.br>
- 3- Ministério da Saúde. (2022). Relatório de gestão de saúde no Brasil: Custos e desafios relacionados às DCNT. Ministério da Saúde. <https://www.saude.gov.br>.
- 4-Soriano, J. B., Kendrick, P. J., & Paulson, K. R. (2020). Chronic respiratory diseases in elderly populations: Epidemiology and impact. *The Lancet Respiratory Medicine*, 8(6), 599–610. [https://doi.org/10.1016/S2213-2600\(20\)30058-3](https://doi.org/10.1016/S2213-2600(20)30058-3)
- 5- Galicia-Garcia, U., Benito-Vicente, A., Jebari, S., Larrea-Sebal, A., Siddiqi, H., Uribe, K. B., Ostolaza, H., & Martín, C. (2020). Pathophysiology of Type 2 Diabetes Mellitus. *International journal of molecular sciences*, 21(17), 6275. <https://doi.org/10.3390/ijms21176275>
- 6- Cho, N. H., Shaw, J. E., Karuranga, S., Huang, Y., da Rocha Fernandes, J. D., Ohlrogge, A. W., & Malanda, B. (2018). IDF Diabetes Atlas: Global estimates of diabetes prevalence for 2017 and projections for 2045. *Diabetes Research and Clinical Practice*, 138, 271–281. <https://doi.org/10.1016/j.diabres.2018.02.023>
- 7- Brownlee, M. (2005). The pathobiology of diabetic complications: A unifying mechanism. *Diabetes*, 54(6), 1615–1625. <https://doi.org/10.2337/diabetes.54.6.1615>
- 8- Petersen, M. C., & Shulman, G. I. (2018). Mechanisms of insulin action and insulin resistance. *Physiological Reviews*, 98(4), 2133–2223. <https://doi.org/10.1152/physrev.00063.2017>
- 9- Hardie, D. G. (2015). AMPK: A key regulator of energy balance in the single cell and the whole organism. *International Journal of Obesity*, 39(8), 1221–1228. <https://doi.org/10.1038/ijo.2014.216>
- 10- Tikellis, C., & Thomas, M. C. (2012). Angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2) in diabetes mellitus: Friend or foe? *Current Diabetes Reports*, 12(2), 236–243. <https://doi.org/10.1007/s11892-012-0255-0>
- 11-Polverino, F., & Celli, B. R. (2018). The challenge of diagnosing and treating chronic respiratory diseases in elderly diabetic patients. *The Lancet Respiratory Medicine*, 6(3), 180–181. [https://doi.org/10.1016/S2213-2600\(18\)30037-1](https://doi.org/10.1016/S2213-2600(18)30037-1)
- 12-Hayden, M. S., & Ghosh, S. (2014). Regulation of NF-κB by TNF family cytokines. *Nature Immunology*, 15(8), 695–703. <https://doi.org/10.1038/ni.2936>

13-Brandao-Rangel, M. A. R., Moraes-Ferreira, R., Oliveira-Junior, M. C., Santos-Dias, A., Bachi, A. L. L., Gabriela-Pereira, G., de Oliveira Freitas, S., Araújo-Rosa, A. C., Oliveira, L. V. F., Frison, C. R., do Prado, W. L., Raju, R. P., Balagopal, P. B., & Vieira, R. P. (2021). Pulmonary function changes in older adults with and without metabolic syndrome. *Scientific reports*, 11(1), 17337. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-96766-x>

14- Barnes, P. J. (2016). Inflammatory mechanisms in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 138(1), 16–27. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2016.05.011>