



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO E CULTURA - MEC
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ – UFPI
PRÓ-REITORIA DE ENSINO E PÓS-GRADUAÇÃO – PRPG
PÓS-GRADUAÇÃO EM ALIMENTOS E NUTRIÇÃO - PPGAN

Mickael
De Paiva Sousa

Dissertação de Mestrado

*RELAÇÃO ENTRE MARCADORES DA
INFLAMAÇÃO CRÔNICA DE BAIXO
GRAU E ESTADO NUTRICIONAL
RELATIVO AO COBRE EM
MULHERES COM OBESIDADE*

Teresina, Piauí. 2022.



Ministério da Educação e Cultura - MEC
Universidade Federal do Piauí – UFPI
Pró-Reitoria de Ensino e Pós-Graduação – PRPG
Programa de Pós-Graduação em Alimentos e Nutrição - PPGAN

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

**RELAÇÃO ENTRE MARCADORES DA
INFLAMAÇÃO CRÔNICA DE BAIXO GRAU E
ESTADO NUTRICIONAL RELATIVO AO COBRE
EM MULHERES COM OBESIDADE**

Mickael de Paiva Sousa

TERESINA

2022

MICKAEL DE PAIVA SOUSA

RELAÇÃO ENTRE MARCADORES DA INFLAMAÇÃO CRÔNICA DE BAIXO GRAU E ESTADO NUTRICIONAL RELATIVO AO COBRE EM MULHERES COM OBESIDADE

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Alimentos e Nutrição da Universidade Federal do Piauí como parte dos requisitos exigidos para a obtenção do título de Mestre em Alimentos e Nutrição.

ORIENTADOR: DR^a. DILINA DO NASCIMENTO MARREIRO

ESTE EXEMPLAR CORRESPONDE À VERSÃO FINAL DA DISSERTAÇÃO DEFENDIDA PELO ALUNO MICKAEL DE PAIVA SOUSA E ORIENTADA PELA PROFESSORA DR^a. DILINA DO NASCIMENTO MARREIRO

TERESINA

2022

FICHA CATALOGRÁFICA
Universidade Federal do Piauí
Biblioteca Setorial do CCS
Serviço de Processamento Técnico

S725r Sousa, Mickael de Paiva.
Relação entre marcadores da inflamação crônica de baixo grau e estado nutricional relativo ao cobre em mulheres com obesidade / Mickael de Paiva Sousa. – 2022.
65 f. : il.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Piauí, Programa de Pós-Graduação em Alimentos e Nutrição, 2022.

Orientação: Prof^a. Dr^a. Dilina do Nascimento Marreiro.

Bibliografia

1. Inflamação. 2. Cobre. 3. Estado Nutricional. 4. Obesidade. I. Marreiro, Dilina do Nascimento. II. Título.

CDD 613.2

MICKAEL DE PAIVA SOUSA

RELAÇÃO ENTRE MARCADORES DA INFLAMAÇÃO CRÔNICA DE BAIXO GRAU E ESTADO NUTRICIONAL RELATIVO AO COBRE EM MULHERES COM OBESIDADE

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Alimentos e Nutrição da Universidade Federal do Piauí como parte dos requisitos exigidos para a obtenção do título de Mestre em Alimentos e Nutrição.

DATA DA DEFESA: 02/05/2022

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr^a. Dilina do Nascimento Marreiro
Presidente

Prof^a. Dr^a. Marize Melo dos Santos
1º Examinador

Prof. Dr. Vladimir Costa Silva
2º Examinador

Prof. Dr^a. Luana Mota Martins
Suplente

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por todas as graças que a mim foram concedidas. Durante essa jornada pude ser agraciado com muitas bênçãos e vivi momentos inesquecíveis de aprendizado e superação. Obrigado, Senhor, por ter me guiado até aqui e pelas pessoas com quem tive o prazer de partilhar esta trajetória. À Ti, toda honra e glória.

À Universidade Federal do Piauí, agradeço por todas as oportunidades de crescimento pessoal e profissional. Levarei com muito carinho o nome da instituição para onde eu for e sempre serei um defensor de sua existência e resistência. Que Deus abençoe todas as pessoas que fazem o dia a dia desta instituição.

Aos professores, por compartilharem seus conhecimentos e suas experiências que tanto agregaram para a minha formação profissional. Em especial as professoras: Dr^a. Marize Melo, pela oportunidade de ser bolsista do CECANE durante a graduação e, assim, expandir minha percepção sobre o que é nutrição social e o quão é importante a luta para garantir o direito de uma alimentação adequada e saudável para a comunidade; Gilmara Péres e Daniele Rodrigues, pelo carinho e compromisso nas aulas e pela parceria e boa convivência no Laboratório de Nutrição Experimental, vocês são pessoas de Deus!

Agradeço de coração a minha querida professora e orientadora Dr^a. Dilina do Nascimento Marreiro, pela recepção como membro do grupo de pesquisa e pela orientação nos trabalhos desenvolvidos. Sempre levarei comigo o sentimento de honra por ter desenvolvido e participado de tantos projetos junto ao grupo mais qualificado da UFPI, guiado pela professora mais qualificada. Que Deus lhe abençoe cada vez mais.

A todas as pacientes que participaram da pesquisa, pela disponibilidade, confiança e colaboração, o que tornou esse trabalho possível.

Agradeço imensamente a família LANEX! Feliz e abençoado o dia em que pude fazer parte desse grupo, representado pelas mentes brilhantes: Thayanne, Loanne, Stefany, Larissa, Jennifer, Tamires e Bruna. Também agradeço às colegas Ana Raquel e Thaline que passaram pelo grupo – hoje doutoras e mestre — mas que sempre estarão em meu coração. Nunca esquecerei tamanha consideração e carinho que tiveram comigo. Estarei sempre torcendo pelo sucesso de vocês.

Aos professores parceiros Gilberto Simeone Henriques (UFMG) e Débora Braz (UFPI) pelo auxílio nas análises, bem como pela disponibilidade em ouvir e ensinar. Foi um grande prazer conhece-los. Gratidão! Em especial, agradeço a professora Kyria, que além de contribuir com a análise estatística desta dissertação, também foi essencial para a minha integração ao

grupo de pesquisa, bem como para a minha formação. Sou grato a Deus pela sua amizade e a Ele oro pela sua felicidade.

À Joyce, minha namorada, meu braço direito, que me acompanha desde o início da graduação. Os momentos mais felizes vividos em minha vida acadêmica pude compartilhar com você e sem você dificilmente eu teria o mesmo sucesso. Obrigado por ser meu porto seguro, minha motivação e minha calma e por me apresentar a quem considero minha segunda família: José (Zezinho), Daiana, José Vyctor e, em especial, a nossa querida Dona Maria (*in memoriam*), pessoas maravilhosas que sempre levarei em meu coração. Que Deus proporcione grandes bênçãos em sua vida, e que eu possa estar presente em cada conquista sua, assim como você nas minhas. Conta comigo para o que der e vier! Amo muito você!

Aos meus pais, meus verdadeiros exemplos de vida. Sem o amor e a fé de vocês, nada seria possível. Obrigado pelas palavras e gestos de apoio, consolo e perseverança. Com vocês eu aprendi e aprendo o real significado do amor de Deus em nossas vidas. Orgulho-me em dizer que todas as minhas conquistas são consequências da educação que me passaram. Meu amor por vocês não tem tamanho. À minha irmã Marília, minha segunda mãe e meu anjo da guarda, que sempre me apoia e faz de tudo para me ver bem e feliz; me dedicarei mais e mais para que tenhas sempre orgulho do seu irmão. Amo você! À minha irmã Marina, pelo seu zelo, carinho e proteção no meu dia-a-dia, sem você tudo seria bem mais difícil. Conte sempre com o meu carinho, amor e cuidado, minha irmã. Aos meus irmãos, Márcio, Marcos e Mickeyas, pela parceria e pela convivência, estaremos sempre juntos! Aos meus sobrinhos queridos, Ellen, Marcus Vinícius, Lays, Layla, Ester, Ycaro e Ítalo. Aos meus cunhados, Ébio, Ozana e Saionara, que completam o ciclo familiar. Obrigado pelo apoio de sempre!

Obrigado por tudo, meu Deus!

RESUMO

SOUSA, M. P. S. **Relação entre marcadores da inflamação crônica de baixo grau e estado nutricional relativo ao cobre em mulheres com obesidade.** 2022. 64 f. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Alimentos e Nutrição, Universidade Federal do Piauí, Teresina, PI.

INTRODUÇÃO: A disfunção do tecido adiposo presente na obesidade contribui para a manifestação de complicações metabólicas com repercussões clínicas relevantes, a exemplo da inflamação crônica de baixo grau. Nesse sentido, tem havido interesse crescente em identificar a possível influência de citocinas inflamatórias na homeostase de micronutrientes em indivíduos com obesidade, sendo que o cobre, em particular, por sua ação pró-oxidante, constitui um dos minerais alvo de diversas pesquisas. Assim, o objetivo deste estudo consiste em analisar a relação entre marcadores da inflamação e o estado nutricional relativo ao cobre em mulheres com obesidade. **METODOLOGIA:** Trata-se de um estudo transversal, com mulheres na faixa etária entre 20 e 50 anos de idade, as quais foram distribuídas em dois grupos: caso (mulheres com obesidade, $n = 80$) e controle (mulheres eutróficas, $n = 122$). Foram realizadas aferições do peso corporal, estatura e circunferência da cintura, conforme metodologia descrita pelo Ministério da Saúde. A análise da ingestão de cobre foi realizada utilizando o programa *Nutwin* versão 1.5, após aplicação do registro alimentar de três dias. As concentrações de cobre plasmático e eritrocitário foram determinadas segundo o método de espectrometria de emissão óptica com plasma acoplado indutivamente, enquanto que a atividade da enzima Superóxido Dismutase (SOD) nos eritrócitos foi avaliada em analisador bioquímico automático. A determinação das concentrações séricas de Interleucina (IL)-6, IL-8, IL-12, IL-10, IL-1 β e Fator de Necrose Tumoral-Alfa (TNF- α) foi conduzida por meio do *kit Cytometric Bead ArrayTM Human Inflammatory Cytokines* (BD Biosciences, United States), procedimento realizado em citômetro de fluxo. Os dados foram analisados por meio do programa estatístico SPSS for Windows 26.0. **RESULTADOS:** As mulheres com obesidade apresentaram concentrações séricas superiores de IL-6 quando comparadas ao grupo controle ($p < 0,05$). De forma semelhante, o estudo revelou consumo do mineral superior pelas mulheres com obesidade ($p < 0,05$). O grupo caso apresentou concentrações de cobre superiores no plasma e inferiores nos eritrócitos quando comparado ao grupo controle. Além disso, a atividade da SOD nos eritrócitos das participantes com obesidade apresentou-se inferior quando comparada às mulheres eutróficas ($p < 0,05$). O estudo identificou correlação moderada negativa significativa entre as citocinas TNF- α e IL-10 e a atividade da SOD nos eritrócitos no grupo de mulheres com obesidade ($p < 0,05$). **CONCLUSÃO:** A partir dos resultados deste estudo, pode-se concluir que as mulheres com obesidade apresentam concentrações séricas de IL-6 elevada, o que caracteriza a inflamação crônica de baixo grau. Além disso, as mulheres com obesidade apresentam alterações no estado nutricional relativo ao cobre, caracterizadas por concentrações elevadas no plasma e reduzidas nos eritrócitos quando comparadas às eutróficas. As concentrações de TNF- α e IL-10 apresentam associação negativa com a atividade da SOD eritrocitária nas mulheres com obesidade do estudo. Tal dado sugere a possível influência da inflamação crônica na distribuição do cobre em indivíduos com obesidade.

Palavras-Chave: Inflamação; Cobre; Estado Nutricional; Obesidade.

ABSTRACT

SOUSA, M. P. S. **Relationship between markers of chronic inflammation and copper nutritional status in obese women.** 2022. 64 p. Masters dissertation - Postgraduate Program in Food and Nutrition, Federal University of Piauí, Teresina, PI.

INTRODUCTION: The adipose tissue dysfunction present in obesity contributes to the manifestation of metabolic complications with relevant clinical repercussions, such as low-grade chronic inflammation. In this sense, there has been growing interest in identifying the possible influence of inflammatory cytokines on micronutrient homeostasis in obese individuals. Copper, in particular, due to its pro-oxidant action, is one of the target minerals of several studies. Thus, the aim of this study is to analyze the relationship between markers of inflammation and nutritional status relative to copper in obese women. **METHODOLOGY:** This is a cross-sectional study, with women aged between 20 and 50 years old, who were divided into two groups: case (obese women, n = 80) and control (eutrophic women, n = 122). Measurements of body weight, height and waist circumference were performed, according to the methodology described by the Ministry of Health. The analysis of copper intake was performed using the Nutwin program version 1.5, after applying the three-day food record. Plasma copper and erythrocyte concentrations were determined using inductively coupled plasma optical emission spectrometry, while the activity of the enzyme Superoxide Dismutase (SOD) in erythrocytes was evaluated in an automatic biochemical analyzer. The determination of serum concentrations of Interleukin (IL)-6, IL-8, IL-12, IL-10, IL-1 β and Tumor Necrosis Factor-Alpha (TNF- α) was carried out using the Cytometric Bead Array™ Human kit Inflammatory Cytokines (BD Biosciences, United States), procedure performed in a flow cytometer. Data were analyzed using the SPSS for Windows 26.0 statistical program. **RESULTS:** Obese women had higher serum concentrations of IL-6 when compared to the control group (p < 0.05). Similarly, the study revealed higher consumption of the mineral by women with obesity (p < 0.05). The case group had higher and lower plasma copper concentrations in erythrocytes when compared to the control group. In addition, SOD activity in the erythrocytes of obese participants was lower when compared to eutrophic women (p < 0.05). The study identified a significant negative moderate correlation between TNF- α and IL-10 cytokines and SOD activity in erythrocytes in the group of obese women (p < 0.05). **CONCLUSION:** Based on the results of this study, it can be concluded that women with obesity have elevated serum IL-6 concentrations, which characterizes low-grade chronic inflammation. In addition, obese women show changes in nutritional status related to copper, characterized by high and reduced plasma concentrations in erythrocytes when compared to eutrophic women. TNF- α and IL-10 concentrations are negatively associated with erythrocyte SOD activity in obese women in the study. This data suggests the possible influence of chronic inflammation on copper distribution in obese individuals.

Key words: Inflammation; Copper; Nutritional status; Obesity.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. Metabolismo do Cobre no Enterócito.	17
Figura 2. Metabolismo do Cobre no Hepatócito	18
Figura 3. Mecanismo envolvido na relação entre inflamação e excesso de cobre sérico na obesidade.	21
Figura 4. Fluxograma das atividades realizadas durante o projeto.	23
Quadro 1. Classificação do estado nutricional, segundo o IMC, em adultos.	24
Figura 5. Distribuição percentual das mulheres participantes dos grupos controle e obeso, segundo os valores de referência de ingestão dietética de cobre. Teresina-PI, Brasil, 2022.	30

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Valores médios e desvios-padrões da idade, peso corporal, estatura e IMC do grupo controle e das mulheres com obesidade. Teresina-PI, Brasil, 2022.	29
Tabela 2- Valores médios e desvios- padrões da ingestão de energia, macronutrientes e cobre do grupo controle e das mulheres com obesidade. Teresina-PI, Brasil, 2022.....	30
Tabela 3 - Concentrações séricas das citocinas inflamatórias do grupo controle e das mulheres com obesidade. Teresina-PI, Brasil, 2022.	31
Tabela 4 - Análise de correlação linear simples entre as concentrações séricas de citocinas das mulheres com obesidade (preenchimento azul) e grupo controle (preenchimento branco). Teresina-PI, Brasil, 2022.	32
Tabela 5 - Valores médios e desvios-padrões dos parâmetros bioquímicos do cobre do grupo controle e das mulheres com obesidade. Teresina-PI, Brasil, 2022.	33
Tabela 6 - Valores médios e desvios-padrões dos parâmetros bioquímicos do cobre das participantes do estudo segundo a classificação do IMC. Teresina-PI, Brasil, 2022.....	33
Tabela 7 – Análise de correlação linear simples entre as citocinas inflamatórias e os parâmetros de avaliação do cobre nas mulheres com obesidade. Teresina-PI, Brasil, 2022.	34
Tabela 8 – Análise de correlação linear simples entre as citocinas inflamatórias e os parâmetros de avaliação do cobre nas mulheres do grupo controle. Teresina-PI, Brasil, 2022.....	34

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

- AMDR** – Faixa de Distribuição Aceitável de Macronutrientes
- ATOX1** – Proteína Antioxidante 1
- ATP7A** – ATPase Transportadora de Cobre Alfa
- ATP7B** – ATPase Transportadora de Cobre Beta
- CAAE** – Certificado de Apresentação e Apreciação Ética
- CC** – Circunferência da Cintura
- CCO** – Citocromo C Oxidase
- CCS** – Chaperona de Entrega de Cobre Requerida pela Superóxido Dismutase
- CNS** – Conselho Nacional de Saúde
- COX17** – Chaperona de Cobre da Citocromo C Oxidase
- CP** – Ceruloplasmina
- CTR** – Transportador de Cobre
- Cu** – Cobre
- DMT1** – Transportador de Metal Divalente 1
- EAR** – Necessidade Média Estimada
- GLUT-4** – Transportador de Glicose Responsivo à Insulina
- HDL** – Lipoproteína de Alta Densidade
- ICP-OES** - Espectrometria de Emissão Atômica por Plasma Acoplado Indutivamente
- IFN- γ** – Interferon Gama
- IL** – Interleucina
- IMC** – Índice de Massa Corpórea
- IOM** – *Institute of Medicine*
- IRS-1** – Receptor de Insulina
- MCP-1** – Proteína Quimioatraente de Monócitos 1
- MT** – Metalotioneína
- SOD** – Superóxido Dismutase
- SSAO** – Amino Oxidase Sensível à Semicarbazida
- TNF- α** – Fator de Necrose Tumoral Alfa
- VLDL** – Lipoproteína de Muito Baixa Densidade
- Zn** – Zinco

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
2 OBJETIVOS	14
2.1 OBJETIVO GERAL	14
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	14
3 REVISÃO DA LITERATURA	15
3.1 DISFUNÇÃO DO TECIDO ADIPOSEO NA OBESIDADE	15
3.2 ASPECTOS METABÓLICOS E FISIOLÓGICOS DO COBRE.....	16
3.3 CONSUMO DE COBRE.....	19
3.4 COBRE, OBESIDADE E INFLAMAÇÃO.....	19
4 METODOLOGIA	22
4.1 DELINEAMENTO DO ESTUDO E PROTOCOLO EXPERIMENTAL.....	22
4.2 AVALIAÇÃO ANTROPOMÉTRICA	23
4.2.1 Peso corporal (Kg) e estatura (cm).....	23
4.2.2 Índice de Massa Corpórea.....	23
4.2.2 Circunferência da Cintura.....	24
4.3 AVALIAÇÃO DO CONSUMO ALIMENTAR	24
4.4 COLETA DO MATERIAL BIOLÓGICO	25
4.5 DETERMINAÇÃO DOS PARÂMETROS BIOQUÍMICOS DO COBRE.....	26
4.5.1 Controle da contaminação e preparo dos reagentes.....	26
4.5.2 Separação dos componentes do sangue.....	26
4.5.2 Determinação do cobre plasmático e eritrocitário.....	26
4.6 DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE DA ENZIMA SUPERÓXIDO DISMUTASE ERITROCITÁRIA.....	27
4.7 DETERMINAÇÃO DE MARCADORES DA INFLAMAÇÃO	27
4.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	27
5 RESULTADOS	29
5.1 PARÂMETROS ANTROPOMÉTRICOS DE AVALIAÇÃO DO ESTADO NUTRICIONAL.....	29
5.2 CONSUMO ALIMENTAR.....	29
5.3 PARÂMETROS BIOQUÍMICOS DE AVALIAÇÃO DAS CITOCINAS INFLAMATÓRIAS E DO COBRE.....	30
5.4 CORRELAÇÃO ENTRE CITOCINAS INFLAMATÓRIAS E PARÂMETROS DE AVALIAÇÃO DO COBRE.....	33

6 DISCUSSÃO	35
7 CONCLUSÃO	38
REFERÊNCIAS	39
APÊNDICES	49
APÊNDICE A - FICHA DE CADASTRO DAS PARTICIPANTES DA PESQUISA	50
APÊNDICE B- TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO	51
APÊNDICE C - REGISTRO ALIMENTAR.....	53
ANEXOS	57
ANEXO A – PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP	58

1 INTRODUÇÃO

A obesidade é considerada um problema de saúde pública mundial, de prevalência elevada, que tem como característica o acúmulo excessivo de gordura corporal, resultante do desequilíbrio entre o consumo alimentar e o gasto energético¹. É considerada fator de risco para diversas doenças crônicas, a exemplo do diabetes, câncer de mama e doenças cardiovasculares²⁻³.

Estudos epidemiológicos têm apontado aumento da prevalência dessa doença ao longo dos anos em todo o mundo^{4, 5}. No Brasil, dados da Pesquisa de Vigilância de Fatores de Risco e Proteção para Doenças Crônicas por Inquérito Telefônico (Vigitel) revelam que 21,5% dos entrevistados estão obesos, apresentando aumento expressivo desde os dados coletados no ano de 2006⁶.

Sobre a patogênese da obesidade, destaca-se que a disfunção do tecido adiposo contribui para a manifestação de complicações metabólicas com repercussões clínicas importantes, como a inflamação crônica de baixo grau, resistência à insulina, estresse oxidativo, disfunção endotelial e alterações no metabolismo da glicose e lipídios^{7, 8}.

No que diz respeito a inflamação crônica de baixo grau, esta é resultado da ineficiência do organismo em reestabelecer a homeostase do sistema imunitário, o que, entre outros fatores, pode ser consequência da exposição contínua e prolongada ao excesso de consumo energético, fator que induz o crescimento desordenado do tecido adiposo. Diante disso, há intenso recrutamento e infiltração de células do sistema imunitário nesse tecido, o que contribui para a sua disfunção e desenvolvimento de comorbidades associadas à obesidade⁹.

Outros fatores são considerados potenciais para manifestação da inflamação crônica associada à obesidade, quais sejam: a produção excessiva de espécies reativas de oxigênio e nitrogênio em detrimento da deficiência do sistema de defesa antioxidante; a hipóxia, causada pela expansão do tecido adiposo; bem como alterações na microbiota intestinal, caracterizada pelo aumento da permeabilidade nesse tecido induzida pela disbiose⁹⁻¹¹.

Nessa temática, outro aspecto importante diz respeito à provável influência da inflamação crônica sobre a homeostase de alguns nutrientes, a exemplo do cobre, em indivíduos com obesidade. Algumas citocinas inflamatórias induzem a expressão de enzimas dependentes desse mineral no fígado, como a ceruloplasmina, sendo que após a expressão dessa enzima, esta é secretada dos hepatócitos para a corrente sanguínea, o que, por consequência, eleva a concentração de cobre no plasma¹²⁻¹⁵. Sobre esse aspecto, pesquisas têm evidenciado que indivíduos com obesidade apresentam concentrações séricas elevadas de cobre, o que possivelmente contribui para potencializar alterações bioquímicas, metabólicas e moleculares nesse grupo populacional¹⁵⁻¹⁷.

Diante da possível influência da inflamação crônica de baixo grau na homeostase do cobre, contribuindo para comprometer as funções fisiológicas realizadas por esse mineral, bem como a escassez e inconsistência de dados na literatura sobre o tema, a realização deste estudo teve a perspectiva de esclarecer a existência de associação entre esses marcadores e, consequentemente, auxiliar na definição de possíveis estratégias de intervenção terapêutica no controle metabólico na população com obesidade.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Investigar a relação entre marcadores inflamatórios e o estado nutricional relativo ao cobre em mulheres com obesidade.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Estimar a ingestão de cobre e macronutrientes, bem como suas adequações na dieta;
- Determinar e comparar as concentrações séricas IL-6, IL-8, IL-12, IL-10, IL-1 β e TNF- α entre os grupos do estudo;
- Determinar e comparar as concentrações de cobre plasmático e eritrocitário entre os grupos do estudo;
- Analisar a atividade enzimática da SOD nos eritrócitos e comparar com o grupo controle.

3 REVISÃO DA LITERATURA

3.1 DISFUNÇÃO DO TECIDO ADIPOSEO NA OBESIDADE

O tecido adiposo é um órgão endócrino responsável pela regulação térmica, formação de metabólitos biologicamente ativos e homeostase energética. No entanto, em situação de excesso, ocorre disfunção desse tecido caracterizada por dislipidemias, hiperleptinemia, produção elevada de espécies reativas de oxigênio, inflamação crônica de baixo grau e resistência à insulina^{3, 18}.

A disfunção do tecido adiposo, presente na obesidade, constitui uma das principais causas do desenvolvimento de dislipidemias em indivíduos com obesidade, sendo que a ação acentuada da enzima lipase hormônio sensível nesse tecido aumenta o fluxo de ácidos graxos livres para o fígado, onde estimulam a síntese de lipoproteínas de muito baixa densidade (VLDL), promovendo hipertrigliceridemia^{3, 19}.

Em condições de hipertrigliceridemia, ocorre redução da atividade da lecitina colesterol acil-transferase, enzima chave para a síntese de lipoproteínas de alta densidade (HDL), e da proteína transportadora de fosfolípidios, responsável por transferir fosfolípidios de lipoproteínas ricas em triglicerídeos para HDL. Essas alterações comprometem a maturação do HDL, prejudicando sua atuação no transporte reverso do colesterol. Dessa forma, ocorre aumento no conteúdo de colesterol em tecidos periféricos e nas concentrações séricas de lipoproteínas ricas em triacilgliceróis, a exemplo de quilomícrons e VLDL^{18, 19}.

Outro aspecto determinante para o desenvolvimento de desordens metabólicas na obesidade diz respeito à resistência à ação da leptina. Nesse sentido, destaca-se que o aumento da adiposidade eleva as concentrações de leptina no soro, o que contribui para o desenvolvimento de resistência à ação desse hormônio na barreira hematoencefálica, levando à redução da ativação da via de sinalização para a regulação do peso corporal^{20, 21}. Vale ressaltar que a leptina é uma adipocina responsável pelo controle da ingestão alimentar por regular a função neuroendócrina e o metabolismo da glicose e da gordura, modulando a ingestão alimentar e o gasto energético²².

A literatura tem demonstrado correlação positiva entre o aumento das concentrações plasmáticas de leptina e o excesso de tecido adiposo^{22, 23}. Em um estudo conduzido por Sámano *et al.*²⁰, os pesquisadores observaram que adolescentes com obesidade, com idades entre 12 e 18 anos, apresentavam concentrações plasmáticas de leptina elevadas. De forma semelhante Olczyk *et al.*²⁴, encontraram concentrações plasmáticas aumentadas de leptina em indivíduos com obesidade e diabetes do tipo 2.

O estresse oxidativo também constitui fator importante para o desenvolvimento de comorbidades na obesidade. Diante disso, ressalta-se que a hiperglicemia, concentrações elevadas de lipídios nos tecidos, deficiências de vitaminas e minerais, inflamação crônica, hiperleptinemia, resistência à insulina e disfunção mitocondrial, presentes na obesidade, são fatores contribuintes para esse desequilíbrio redox²⁵.

Além disso, o estresse oxidativo pode contribuir para o aumento da adiposidade e ainda alterar a ingestão de alimentos, interferindo no controle do peso corporal, uma vez que espécies reativas de oxigênio exercem diferentes efeitos sobre os neurônios hipotalâmicos que controlam o comportamento da saciedade e da fome^{26, 27}.

Outra alteração metabólica presente em indivíduos com obesidade é a inflamação crônica de baixo grau, que é consequência da produção exacerbada de citocinas pró-inflamatórias. Além de armazenar o excesso de energia na forma de triacilgliceróis, o tecido adiposo, por ser um órgão endócrino ativo, secreta diferentes peptídeos, as adipocitocinas, a exemplo da IL-6, TNF- α e Proteína Químioatratante de Monócitos 1 (MCP-1). Nesse sentido, é oportuno ressaltar que

o tecido adiposo possui limiar seguro de expansão para o armazenamento de gordura, sem desenvolvimento de disfunção. No entanto, quando o limite de expansão é atingido, ocorre hipóxia nos adipócitos, levando ao incremento na produção dessas moléculas, exacerbando o quadro inflamatório já existente na obesidade^{9,28}.

Ademais, vale destacar a importância da infiltração de células do sistema imunitário, a exemplo do interferon-gama, no tecido adiposo, onde induz a polarização de macrófagos M2 (anti-inflamatórios) para o fenótipo M1 (pró-inflamatório), para aumentar a inflamação local. Tal disfunção está associada ao desenvolvimento da aterosclerose e resistência à insulina²⁹.

O TNF- α foi a primeira citocina evidenciada com atuação direta na inibição da função da insulina no adipócito³⁰. Essa citocina desregula o principal transportador de glicose responsivo à insulina (GLUT-4), inibindo a fosforilação da tirosina do receptor de insulina e do substrato 1 do receptor de insulina (IRS-1), por meio da produção de ceramida. Associado a isso, alguns fatores produzidos por células inflamatórias, desde então, mostraram inibir a sinalização desse hormônio no adipócito, incluindo IL-6, interferon-gama e MCP-1³¹.

Portanto, verifica-se a relevância da busca de um melhor entendimento acerca dos mecanismos envolvidos na fisiopatologia da obesidade, bem como a importância de estudos que abordem a elaboração de estratégias mais eficazes no controle das comorbidades associadas à doença.

3.2 ASPECTOS METABÓLICOS E FISIOLÓGICOS DO COBRE

O cobre é um metal de transição, cujo principal papel metabólico se dá essencialmente como cofator catalítico para a atividade de suas enzimas dependentes, as cuproenzimas. Tais enzimas são essenciais para a respiração celular, oxidação e transporte de ferro, formação de pigmentos, biossíntese de neurotransmissores, defesa antioxidante e formação do tecido conjuntivo³².

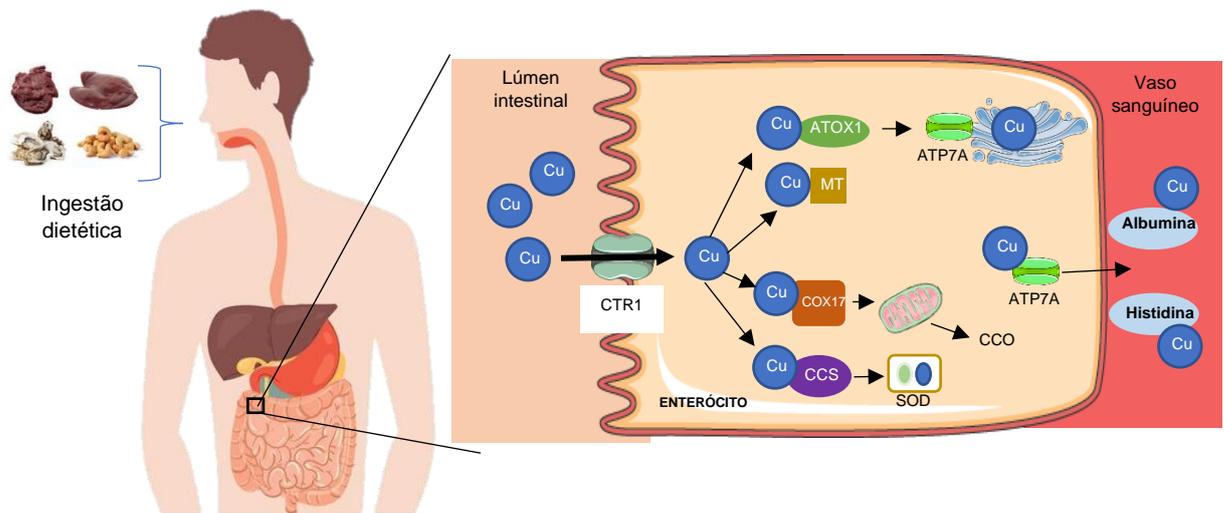
Com relação à absorção do cobre, esta ocorre em sua maioria no duodeno, onde o mineral é transportado através da membrana plasmática para o interior do enterócito por meio do transportador de cobre 1 (CTR1). O CTR1 é uma proteína transmembrana que atua como um canal de íons para facilitar o transporte de cobre ao citoplasma. Alguns outros transportadores também podem contribuir para a absorção desse nutriente, como por exemplo os transportadores de cobre adicionais (CTR2) e o transportador de metal divalente 1 (DMT1), embora tenham menos afinidade pelo mineral e não sejam eficazes para compensar a perda da função da CTR1^{33, 34}.

Uma vez dentro do enterócito, o cobre pode ser retido no citoplasma pela metalotioneína, uma proteína de baixo peso molecular, a qual é fundamental para a prevenção de danos tóxicos e oxidativos do metal. No meio intracelular, o cobre também é captado por proteínas transportadoras denominadas chaperonas, que entregam o mineral a vários compartimentos subcelulares, onde atua como cofator de cuproenzimas³².

Entre as chaperonas de cobre cita-se a Proteína Antioxidante 1 (ATOX1), que fornece o mineral para os domínios N-terminais de ligação ao metal das ATPases transportadoras de cobre ATP7A (*ATPase copper transporting alpha*) e ATP7B (*ATPase copper transporting beta*), localizadas na rede *trans*-Golgi. Essas ATPases catalisam a translocação de cobre dependente de ATP através das membranas, função chave no efluxo e secreção do cobre intracelular para o espaço extracelular^{33, 35}.

Após ser exportado das células intestinais por intermédio da ATP7A, o cobre é ligado às proteínas transcupreína e albumina, bem como a aminoácidos, entre estes a histidina, glutamina, treonina e cisteína, que fornecem o mineral para os tecidos, principalmente para o fígado, pela circulação porta hepática (Figura 1)^{32,36}.

Figura 1. Metabolismo do Cobre no Enterócito.



Fonte: Elaborada pelo autor, 2022.

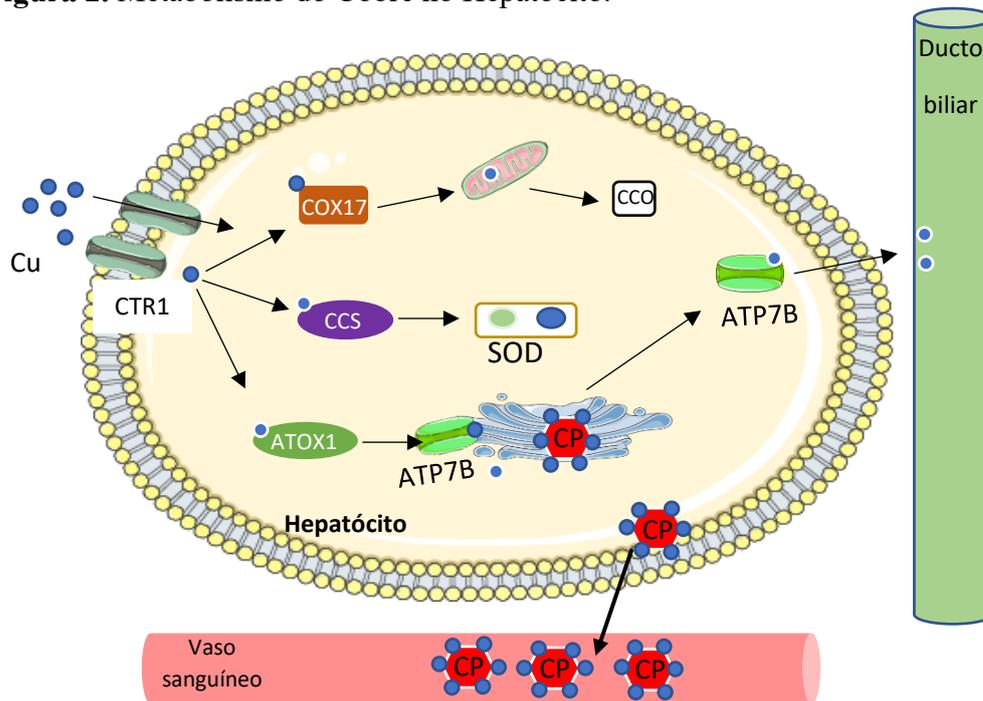
O cobre é importado na membrana plasmática pelo transportador CTR1 e direcionado a chaperonas dependentes de cobre e à metalotioneína (MT). A MT se complexa ao cobre no citoplasma, evitando a toxicidade do metal. A Atox 1 conduz cobre para a rede *trans*-Golgi e para o transportador ATP7A. A COX17 carrega o mineral para mitocôndria, para a síntese de citocromo C-oxidase. A CCS conduz o cobre para a Cu/Zn SOD. O ATP7A promove a exportação do mineral para o meio extracelular para se ligar à albumina e histidina, que irão transportá-lo à diversos tecidos, principalmente para o fígado. MT, Metalotioneína; *Atox1*, *antioxidant 1 copper chaperone*; ATP7A, *ATPase copper transporting alpha*; CTR1, transportador de cobre 1; CCS, *copper-delivering chaperone required for SOD*; Cu, cobre; SOD, superóxido-dismutase; COX17, *cytochrome c oxidase copper chaperone*; CCO, citocromo C-oxidase.

Para ser absorvido pelos hepatócitos, o cobre na forma cúprica (Cu^{2+}), precisa ser reduzido para a forma cuprosa (Cu^{1+}), função exercida pelas redutases de ferro Dcytb e a Steap2. Em seguida, a depender da necessidade do organismo e da biodisponibilidade desse micronutriente, o cobre pode ser armazenado nos hepatócitos, secretado de volta para a corrente sanguínea ou ser excretado na bile, sendo este o principal mecanismo responsável por regular a sua homeostase no fígado³⁷.

De forma semelhante à absorção nos enterócitos, o CTR1 importa cobre para o interior do hepatócito, onde o mineral se liga a chaperonas, a exemplo da CCS (*CCS - copper-delivering chaperone required for SOD*) e ATOX 1. Esta última conduz o cobre para a rede *trans*-Golgi, organela na qual o micronutriente é incorporado à ceruloplasmina por intermédio da ATP7B. Em seguida, a ceruloplasmina sai do hepatócito e é transportada pela corrente sanguínea para vários tecidos^{36, 37}.

Destaca-se que, quando há acúmulo de cobre no hepatócito além das necessidades metabólicas, a ATP7B se desloca da rede *trans*-Golgi em direção à membrana apical da célula para facilitar a excreção do excesso do mineral na bile. Em seguida, o cobre biliar, que é complexado com sais biliares, torna-se não biodisponível, sendo, então, perdido nas fezes em concentrações de, aproximadamente, 1 mg/dia (Figura 2)^{36, 37}.

Figura 2. Metabolismo do Cobre no Hepatócito.



Fonte: Elaborada pelo autor, 2022.

O cobre é importado na membrana plasmática pelo transportador CTR1 e direcionado à chaperonas dependentes de cobre. A Atox 1 conduz cobre para a rede *trans* Golgi e para o transportador ATP7B. A COX17 conduz o mineral à mitocôndria, para a síntese de citocromo C-oxidase. A CCS conduz o cobre para a Cu/Zn SOD. O ATP7B promove a exportação do mineral ao ducto biliar, para em seguida ser excretado; como também é responsável pela incorporação do cobre à CP, que será secretada na circulação. *Atox1*, *antioxidant 1 copper chaperone*; *ATP7B*, *ATPase copper transporting beta*; *CTR1*, transportador de cobre 1; *CCS*, *copper-delivering chaperone required for SOD*; *Cu*, cobre; *SOD*, superóxido-dismutase; *COX17*, *cytochrome c oxidase copper chaperone*; *CCO*, citocromo C-oxidase; *CP*, ceruloplasmina.

De forma semelhante a outros metais, a proporção de cobre absorvida diminui ou aumenta em situações de excesso ou deficiência, respectivamente. Nesse sentido, destaca-se que em situações de acúmulo excessivo de cobre, ocorre redução da expressão do transportador CTR1, bem como remoção deste da superfície da membrana celular para o interior do citoplasma por meio de internalização ou de degradação dependente de endocitose. Por outro lado, em condições de concentrações reduzidas do mineral, tal receptor no meio intracelular pode retornar à membrana plasmática para, dessa forma, viabilizar a captação do micronutriente^{38, 39}.

O cobre está amplamente distribuído nos alimentos e suas melhores fontes são fígado, mexilhões, ostras, cereais integrais, nozes e chocolate. As principais fontes alimentares fornecem entre 300 e 2.000 μg do mineral por 100 g de alimento. A maior parte dos grãos, dos produtos à base de chocolate, das frutas e vegetais, como frutas secas, cogumelos, tomate, banana, uva, batatas e a maioria das carnes apresenta quantidades intermediárias de cobre, entre 100 e 300 $\mu\text{g}/100\text{ g}$ ⁴⁰.

Vale ressaltar que vários fatores dietéticos diminuem a biodisponibilidade do cobre, incluindo frutose, ácido ascórbico, alguns aminoácidos e minerais como o zinco, ferro e molibdênio, principalmente quando a ingestão desses constituintes da dieta é alta. Isso pode ser justificado pela competição por transportadores celulares na mucosa intestinal, bem como alterações no pH do intestino, o que culmina na redução da absorção desse micronutriente⁴⁰.

A avaliação do estado nutricional relativo ao cobre pode ser determinada pela análise da ceruloplasmina, do cobre sérico livre e do cobre sérico total, biomarcadores de maior importância. Nesse sentido, ressalta-se que, aproximadamente, 95% do metal no plasma está

incorporado à ceruloplasmina, a qual possui sua atividade enzimática reduzida na deficiência desse mineral, o que faz dessa proteína um parâmetro eficiente para avaliação do estado nutricional relativo ao cobre^{41, 42}.

Uma outra técnica em potencial para determinar o estado nutricional relativo ao cobre é a análise da atividade enzimática da SOD nos eritrócitos, uma vez que, em casos de restrição dietética de cobre, há redução da atividade dessa enzima na célula. A determinação da chaperona CCS também tem se apresentado como um parâmetro bioquímico promissor, pois uma proporção significativa de cobre celular está ligada a essa proteína, o que destaca a sua utilização na avaliação do estado nutricional relativo a esse mineral. Diante disso, tem-se sugerido a razão CCS/SOD para a obtenção de resultados mais fidedignos sobre a deficiência em cobre⁴⁰.

3.3 CONSUMO DE COBRE

O consumo de alimentos da população mundial tem sofrido mudanças, caracterizadas pelo aumento da ingestão de alimentos com densidade energética elevada, pobres em fibras e ricos em gordura saturada, gordura *trans* e açúcares simples, os quais, associados à inatividade física, ao tabagismo e ao consumo excessivo de álcool, têm sido identificados como preditores independentes da obesidade, entre outras doenças crônicas^{43, 44}. Nesse sentido, tem havido crescente interesse de pesquisadores em evidenciar a importância do consumo adequado de micronutrientes, a exemplo do cobre, para a prevenção e controle dessas doenças^{45 46, 47}.

Tan e Soma Roy⁴⁵, por meio de um estudo transversal que envolveu 128 indivíduos com IMC elevado, identificaram associação positiva entre a ingestão dietética de cobre e resistência à insulina. Os autores destacam a importância do consumo adequado desse mineral. Jiang *et al.*⁴⁶, por sua vez, não encontraram inadequações no consumo de cobre, mas verificaram correlação negativa entre teor desse micronutriente na dieta e circunferência da cintura de homens e mulheres participantes da Pesquisa Nacional de Saúde e Nutrição dos Estados Unidos (NHANES 2007 – 2014), indicando a ingestão adequada de cobre como um possível fator preventivo da obesidade.

No estudo de Tureck *et al.*⁴⁷, ao avaliar a relação entre a ingestão de nutrientes antioxidantes pela população brasileira e o estado nutricional dos indivíduos, os pesquisadores observaram maiores percentuais de ingestão insuficiente de cobre nos idosos de ambos os sexos e nos adultos com baixo peso, o que provavelmente pode ser consequência da redução do apetite durante o processo de envelhecimento, ou pela dificuldade no acesso a uma alimentação variada.

É oportuno ressaltar a escassez de estudos clínicos que indicam a deficiência da ingestão dietética de cobre, em particular na população com obesidade, o que, possivelmente, é consequência da variedade de alimentos fontes do mineral. Sob outra perspectiva, a toxicidade do cobre como resultado do excesso na dieta geralmente não é considerada um problema de saúde generalizado, provavelmente devido a eficiência dos mecanismos homeostáticos que controlam a absorção e excreção desse micronutriente⁴⁸.

3.4 COBRE, OBESIDADE E INFLAMAÇÃO

Nos últimos anos, diversos estudos têm sido conduzidos na perspectiva de esclarecer as desordens endócrino-metabólicas e nutricionais envolvidas na patogênese da obesidade. Nessa perspectiva, os minerais têm sido estudados em razão da sua importância em diversos processos metabólicos, a exemplo da ação da insulina, hormônios tireoidianos e metabolismo energético. Associado a isso, pesquisas têm evidenciado alterações na distribuição desses minerais em indivíduos com obesidade⁴⁹⁻⁵¹.

Sobre o cobre, a literatura tem demonstrado que indivíduos com obesidade apresentam concentrações séricas elevadas desse micronutriente, como, por exemplo, os resultados da metanálise realizada por Gu *et al.*¹³ que identificaram aumento das concentrações séricas de cobre associado à obesidade em crianças e adultos^{15, 16, 52}.

Azab *et al.*⁵³ evidenciaram que crianças obesas apresentam concentrações séricas de cobre elevadas quando comparadas às eutróficas. Ratificando esse resultado, Tinkov *et al.*¹⁷, em um estudo do tipo caso-controle, verificaram que as concentrações séricas de cobre estavam significativamente superiores em mulheres com obesidade quando comparadas a indivíduos eutróficos.

Nesse cenário, tem sido apontado possíveis fatores que influenciam as concentrações de cobre em indivíduos com obesidade, a exemplo da inflamação crônica de baixo grau. Sobre isso, ressalta-se que o incremento na secreção de citocinas pró-inflamatórias pelo tecido adiposo aumenta a expressão de ceruloplasmina no fígado, a qual, por sua vez, complexa-se ao cobre, sendo estes, em seguida, secretados do hepatócito para a corrente sanguínea e, conseqüentemente, aumentando as concentrações do mineral no sangue^{15, 54}.

A pesquisa realizada por Jaksic *et al.*⁵⁵ revelou correlação positiva entre o cobre plasmático e a proteína C-reativa em crianças com pré-obesidade e obesidade. De forma semelhante, Liang *et al.*⁵⁶ também verificaram relação positiva entre as concentrações plasmáticas desse mineral e a proteína C-reativa em crianças com índices elevados de adiposidade.

No estudo de Habib *et al.*⁵⁷, os autores encontraram concentrações séricas de cobre, TNF- α , IL-6 e leptina elevadas em indivíduos com obesidade quando comparados ao grupo controle. Os resultados do estudo realizado por Jeong *et al.*⁵⁸ também mostraram associação positiva entre a concentração capilar de cobre e razão neutrófilos-linfócitos, um marcador inflamatório, em indivíduos com sobrepeso e obesidade.

Destaca-se, também, que o aumento das concentrações séricas de cobre em indivíduos com obesidade parece ser decorrente da atividade da enzima Amina Oxidase Sensível à Semicarbazida (SSAO), a qual é dependente desse mineral. Deve-se ressaltar que o tecido adiposo é o principal órgão secretor dessa enzima, o que conseqüentemente, é responsável por suas concentrações séricas elevadas, especialmente sob condições de inflamação, comum em indivíduos com obesidade¹⁵.

Outro fator contribuinte para aumentar as concentrações plasmáticas de cobre é a hipozincemia, comum na obesidade, pois em situações de deficiência em zinco ocorre aumento na expressão dos genes codificantes para citocinas pró-inflamatórias, incluindo TNF- α , IL-6, IL-8 e IL-1 β , as quais induzem a expressão de cuproenzimas que elevam a secreção de cobre de tecidos específicos de forma excessiva para o sangue^{13, 59, 60}.

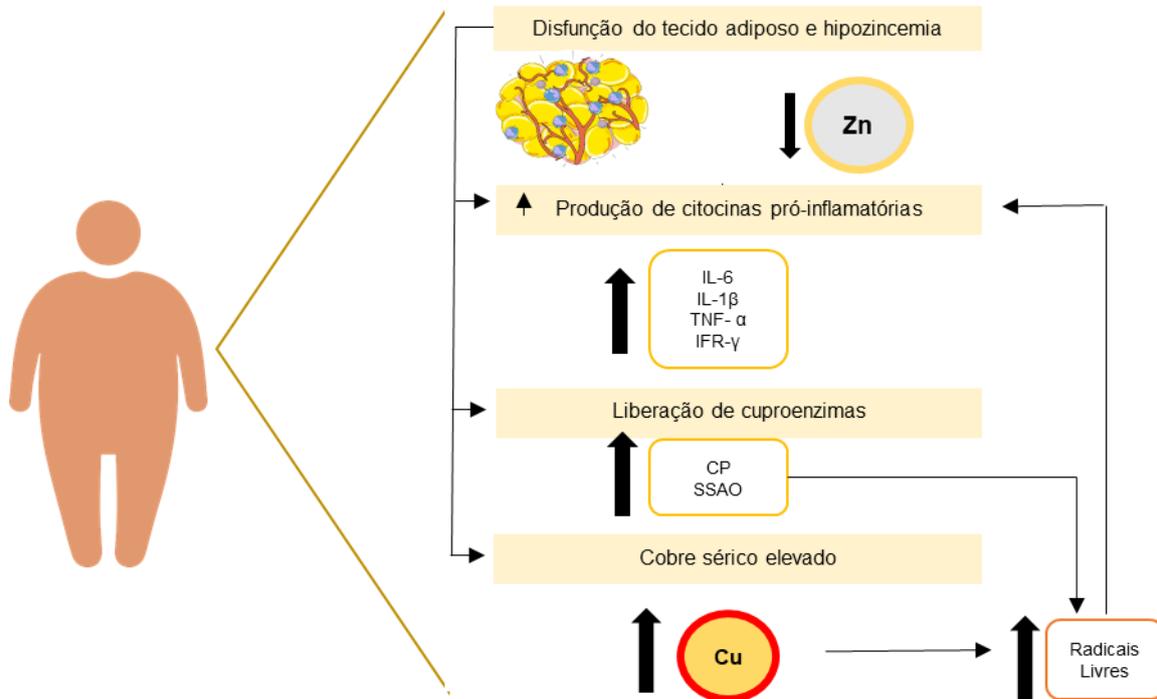
Nesse sentido, no estudo de Torkanlou *et al.*⁶¹ foi encontrado concentrações séricas reduzidas de zinco e elevadas de cobre, além do aumento da razão entre cobre e zinco em indivíduos com obesidade. O estudo de Jeong *et al.*⁵⁸ evidenciou maior proporção de cobre em relação ao zinco no cabelo de indivíduos com excesso de peso, sendo estes parâmetros associados positivamente com marcadores inflamatórios.

Além disso, tem-se verificado a participação do cobre na manifestação da inflamação de forma indireta, por meio da sua ação pró-oxidante. O aumento desse mineral na circulação sanguínea promove maior produção de radicais livres, os quais ativam uma série de fatores de transcrição, incluindo proteína ativadora-1, fator 1-alfa induzível por hipóxia e fator nuclear kappa- β , bem como citocinas pró-inflamatórias e quimiocinas, que favorecem o quadro de inflamação crônica de baixo grau na obesidade (Figura 3)¹³.

Portanto, diante da presença de desordens metabólicas importantes associadas à obesidade, em particular a inflamação crônica de baixo grau, alteração que parece exercer influência relevante sobre a distribuição do cobre em organismos obesos, bem como a escassez de dados acerca da situação desse mineral na obesidade, torna-se evidente a necessidade de

esclarecimentos sobre o estado nutricional relativo ao cobre e a possível participação da inflamação na sua homeostase em indivíduos com obesidade.

Figura 3. Mecanismo envolvido na relação entre inflamação e excesso de cobre sérico na obesidade.



Fonte: Elaborada pelo autor, 2022.

Zn = zinco; Cu = cobre; IL = Interleucina; CP = Ceruloplasmina; SSAO = Amina Oxidase Sensível à Semicarbazida; TNF- α = Fator de Necrose Tumoral Alfa; IFR- γ = Interferon Gama.

4 METODOLOGIA

4.1 DELINEAMENTO DO ESTUDO E PROTOCOLO EXPERIMENTAL

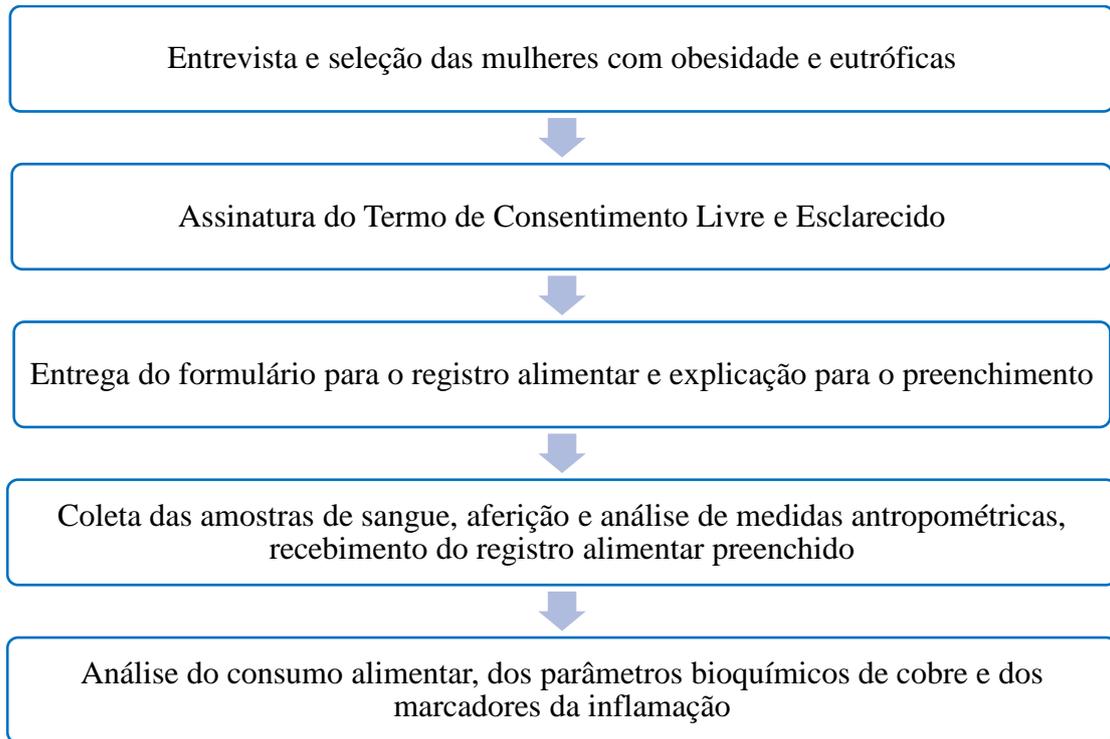
Estudo de natureza transversal, desenvolvido a partir de um projeto macro intitulado “Impacto de Minerais em Distúrbios Endócrino-Metabólicos” envolvendo mulheres adultas. As participantes do estudo foram distribuídas em dois grupos: grupo caso (mulheres com obesidade, n = 80) e controle (mulheres eutróficas, n = 122). A definição da amostra do estudo foi baseada na amostragem por conveniência, sendo as participantes recrutadas da demanda espontânea de ambulatórios clínicos de Teresina – PI.

As participantes foram recrutadas por meio de entrevista, selecionando-as conforme critérios de inclusão previamente estabelecidos: idade entre 20 e 50 anos; índice de massa corpórea a partir de 30,0 kg/m² (grupo caso) e entre 18,5 e 24,9 kg/m² (grupo controle); ausência de diabetes, doença renal crônica, doenças cardiovasculares, doenças hepáticas (exceto esteatose hepática), doenças inflamatórias intestinais, câncer ou infecções recentes; gestação ou lactação; não participação em outro estudo clínico; não fazer uso de suplemento vitamínico-mineral e/ou medicamentos que possam interferir no metabolismo do cobre; não fumantes; não ingerir álcool de forma crônica.

O projeto foi cadastrado na Plataforma Brasil e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal do Piauí, conforme prevê a Resolução nº 466/12 do Conselho Nacional de Saúde (CNS)⁶², sob Certificado de Apresentação para Apreciação Ética (CAAE) nº 3.276.485 (ANEXO A)⁶². As participantes assinaram um termo de consentimento livre esclarecido e descritivo do estudo (APÊNDICE B), elaborado de acordo com a Declaração de Helsinki III, capítulo 50, parágrafos 50.20/27, que trata da proteção dos participantes e orienta procedimentos referentes às pesquisas que necessitam de experiências com humanos. As etapas realizadas pelas participantes do estudo estão descritas na figura 4.

Todas as mulheres que aceitaram participar da pesquisa receberam uma ficha de cadastro (APÊNDICE A), após terem conhecimento de informações detalhadas sobre o estudo, com linguagem adequada, conforme estabelecido pela Resolução nº 466/12 do CNS⁶². Em seguida, foi entregue um formulário para o registro alimentar (APÊNDICE C), e explicado a forma de preenchimento, bem como foram agendadas datas para aferição das medidas antropométricas (peso corporal, estatura, circunferência da cintura), coleta de sangue e devolução do registro alimentar preenchido.

Figura 4. Fluxograma das atividades realizadas durante o projeto.



Fonte: Elaborada pelo autor (2022).

4.2 AVALIAÇÃO ANTROPOMÉTRICA

Para avaliação antropométrica foram aferidos peso corporal, estatura e circunferência da cintura das participantes do grupo caso e controle, conforme metodologia descrita pelo Ministério da Saúde⁶³. Os dados antropométricos foram anotados na ficha de cadastro das participantes da pesquisa (APÊNDICE A).

4.2.1 Peso corporal (Kg) e estatura (cm)

O peso corporal foi aferido utilizando balança digital, marca Plenna®, modelo SIM09190, com capacidade máxima de 180 kg, graduada em 100 gramas, estando as participantes com roupas leves⁶³. A estatura foi mensurada com estadiômetro, marca Seca®, graduado em centímetros e com barra vertical fixa, para posicionamento sobre a cabeça, estando as participantes descalças, com os pés unidos, em posição ereta, olhando para frente⁶³. O peso e a estatura foram medidos em triplicata para cada participante, sendo então obtida a média dessas medidas⁶⁴.

4.2.2 Índice de Massa Corpórea (IMC)

O IMC foi calculado a partir do peso médio (Kg) da participante do estudo dividido por sua estatura (m) elevada ao quadrado⁶⁵.

$$\text{IMC (kg/m}^2\text{)} = \frac{\text{Peso atual (kg)}}{\text{Estatura (m)}^2}$$

A classificação do estado nutricional a partir da distribuição do IMC foi realizada segundo a recomendação da Organização Mundial da Saúde⁶⁵, apresentada no quadro 1.

Quadro 1. Classificação do estado nutricional, segundo o IMC, em adultos.

Classificação	IMC (Kg/m²)
Eutrófico	18,5 - 24,9
Pré-obesidade	25,0 – 29,9
Obesidade classe I	30,0 – 34,9
Obesidade classe II	35,0 – 39,9
Obesidade classe III	≥ 40

Fonte: *World Health Organization (2000)*⁶⁵.

4.2.3 Circunferência da Cintura

A medida da circunferência da cintura foi aferida com as participantes em pé, utilizando uma fita métrica não extensível, circundando a linha natural da cintura, na região mais estreita entre o tórax e o quadril. A classificação do risco cardiovascular a partir da circunferência da cintura foi realizada segundo a recomendação da Organização Mundial da Saúde⁶⁶, a qual classifica como risco cardiovascular elevado circunferências maiores ou iguais a 80 centímetros, bem como classifica circunferências maiores ou iguais a 88 centímetros como risco cardiovascular muito elevado.

4.3 AVALIAÇÃO DO CONSUMO ALIMENTAR

A avaliação do consumo alimentar foi feita de acordo com a técnica de registro alimentar de três dias, compreendendo dois dias alternados durante a semana e um dia no final de semana. No momento da entrega dos formulários, as participantes foram orientadas quanto à forma correta de anotar os alimentos, como discriminar os tipos de refeições, preparações, porcionamentos, medidas caseiras, quantidades e horários de consumo.

As quantidades de energia, macronutrientes e o teor de cobre na dieta foram calculadas com auxílio do programa *Nutwin*, versão 1.5, do Departamento de Informática em Saúde da Universidade Federal de São Paulo⁶⁷. Os alimentos não encontrados no programa foram incluídos com base nas informações da Tabela Brasileira de Composição de Alimentos⁶⁸ e da Tabela de Composição de Alimentos do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística⁶⁹.

Após aplicação do registro alimentar de três dias, os valores de ingestão de cobre e de macronutrientes foram ajustados pela variabilidade intrapessoal e interpessoal, corrigida por técnicas de modelagem estatística incorporadas na plataforma *online Multiple Source Method – MSM* (versão 1.0.1)^{70, 71}.

Os dados foram inseridos no programa para estimar o consumo habitual, por meio da análise de regressão logística, verificando a probabilidade de ingerir um alimento ou nutriente em um dia aleatório, incluindo no modelo estatístico as covariáveis consideradas preditivas para a ingestão alimentar, como sexo e idade⁷¹⁻⁷³.

Para avaliar a quantidade habitual consumida de alimentos a partir do registro alimentar de três dias, foi feita regressão linear simples. Em seguida, foi realizada a estimativa da ingestão diária usual dos nutrientes para cada participante, a partir da multiplicação entre a probabilidade do consumo e a quantidade usual de ingestão^{71, 74}.

Os valores dietéticos de macronutrientes e cobre também foram ajustados em relação à energia por meio do método residual, evitando distorções geradas por diferenças no consumo energético. Após verificar a normalidade da distribuição dos dados, os valores de ingestão foram ajustados em relação à energia pelo cálculo do nutriente⁷⁵⁻⁷⁷.

Inicialmente, foi feita análise de regressão linear simples, considerando-se o total de energia ingerida como variável independente e o valor absoluto do nutriente como variável dependente. Utilizando-se a equação geral da regressão linear, foi determinada a quantidade estimada de nutriente (Y_e) que o indivíduo deve consumir em conformidade à média individual de consumo de energia.

$$\text{Equação 1: } Y_e = \beta_0 + \beta_1 \times \text{média do consumo energético do indivíduo}$$

Onde:

β_0 = intercepto da regressão linear simples

β_1 = tangente

O resíduo da regressão (Y_r) representa a diferença entre a ingestão atual observada (Y_o) e a ingestão estimada para cada indivíduo.

$$\text{Equação 2: } Y_r = Y_o - Y_e$$

Por definição, o resíduo possui média zero e pode apresentar valores positivos e negativos. Com isso, faz-se necessária a adição de uma constante, que é estatisticamente arbitrária. Willett *et al.*⁷⁸ propõem que a constante seja o consumo estimado do nutriente para a média do total de energia consumida pela população de estudo.

$$\text{Equação 3: } Y_c = \beta_0 + (\beta_1 \times \text{média do consumo energético da população})$$

O valor do nutriente ajustado ou residual (Y_a) consiste na soma do Y_r e da constante Y_c e refere-se ao valor do nutriente ingerido não correlacionado com o total de energia consumida.

$$\text{Equação 4: } Y_a = Y_r + Y_c$$

A adequação dos valores de ingestão dos macronutrientes foi avaliada considerando a faixa de distribuição aceitável dos macronutrientes (AMDR), sendo 45 a 65% de carboidratos, 10 a 35% de proteína, e 20 a 35% de lipídio⁷⁹. Para verificar a adequação da ingestão alimentar de cobre, foi utilizado como referência a EAR, contida nas DRI's, sendo 700 $\mu\text{g}/\text{dia}$ para mulheres com idade a partir de 19 anos⁸⁰.

4.4 COLETA DO MATERIAL BIOLÓGICO

Amostras de sangue venoso foram coletadas no período da manhã, entre 7 e 9 horas, estando as participantes em jejum mínimo de 12 horas, sendo utilizadas seringas plásticas descartáveis e agulhas de aço inoxidável, estéreis e descartáveis. O sangue colhido foi distribuído em tubos separados, sendo um com EDTA para determinação de cobre e outro com ativador de coágulo para a análise de citocinas.

4.5 DETERMINAÇÃO DOS PARÂMETROS BIOQUÍMICOS DO COBRE

4.5.1 Controle da contaminação e preparo dos reagentes

A fim de garantir o controle de contaminação por minerais, toda a vidraria e material de polipropileno utilizado para as análises foram desmineralizados antes do uso, por meio do banho em solução de ácido nítrico a 10%, durante um período mínimo de 24 horas. Posteriormente, foram enxaguados em água deionizada, no mínimo 10 vezes, secos em estufa e mantidos em depósitos fechados, até o momento da utilização⁸¹. Os reagentes foram preparados e diluídos em água livre de íons processada pelo Milli-Q (*Millipore, Bedford, MA*).

4.5.2 Separação dos componentes do sangue

O plasma foi separado do sangue total por centrifugação (CIENTEC® 4K15, São Paulo, Brasil) a 1831 x g durante 15 minutos a 4 °C e, em seguida, extraído com pipeta automática e acondicionado em microtubos de polipropileno, sendo posteriormente conservados a -20 °C (para determinação de cobre) e -80 °C (para a determinação das citocinas). Para separação dos eritrócitos e subsequente determinação do cobre, foram utilizados os métodos propostos por Whitehouse *et al.*⁸². A massa eritrocitária foi lavada com 10 mL de solução salina isotônica (NaCl a 0,9%), sendo cuidadosamente homogeneizada por inversão e, posteriormente, centrifugada (SIGMA® 4K15) a 2493 x g por 10 minutos.

Este procedimento foi repetido três vezes para remover contaminantes dos eritrócitos (plaquetas e leucócitos). Após a última centrifugação, a solução salina foi aspirada e descartada, e a massa eritrocitária extraída cuidadosamente com o auxílio de uma pipeta automática, quando foi transferida para tubos de polipropileno desmineralizados, mantidos à temperatura de -20°C para posterior análise⁸².

4.5.3 Determinação do cobre plasmático e eritrocitário

As análises do cobre plasmático e eritrocitário foram feitas no Laboratório de Espectrometria de Emissão Atômica – Embrapa (Centro Nacional de Pesquisa de Milho e Sorgo). A análise desse mineral foi realizada em espectrômetro de emissão óptica com plasma acoplado indutivamente (720 ICP/OES, Varian Inc., Estados Unidos)⁸³⁻⁸⁵. O aparelho foi configurado com as seguintes condições experimentais: Potência: 1,4 kW; Fluxo de plasma (gás): 15 L/min; Fluxo de gás auxiliar: 1,5 L/min; Tipo de câmara de spray: ciclônica; e Fluxo do nebulizador: 0,7 L/min.

As amostras de plasma foram diluídas em 1:20 (v/v) da seguinte forma: 3,0% (m/v) 1-butanol, 0,1% (v/v) TAMA (surfactante de alta pureza), 0,05% (v/v) HNO₃. As amostras de eritrócitos/papa de hemácias foram diluídas em 1:60 (v/v) da seguinte forma: 3,0% (m/v) 1-butanol, 0,2% (v/v) TAMA (surfactante de alta pureza), 0,1% (v/v) HNO₃. Todos os padrões foram preparados da mesma forma que as amostras. As curvas de calibração foram preparadas nas seguintes concentrações: 1, 5, 10, 20, 50 e 100 µg/L em soluções diluentes contendo 3,0% (m/v) 1-butanol, 0,1% (v/v) TAMA (surfactante de alta pureza) e 0,05% (v/v) HNO₃.

A escolha das linhas espectrais de análise foi baseada tanto na sua sensibilidade quanto na interferência espectral. A leitura para o cobre foi realizada no comprimento de onda de 324,760 nm. Os limites de detecção foram determinados a partir da equação: $3 \times \text{desvio padrão de } 10 \text{ medições do branco}$, dividido pela declividade da curva de calibração. Amostras de material de referência certificado (Seronorm® OligoelementSerum, Noruega) foram determinadas para validar as medições analíticas em ICP-OES. Considerou-se como valores de referência o

intervalo entre 80 e 155 $\mu\text{g/dL}$ para o cobre plasmático⁸⁶ e 30,5-132,2 $\mu\text{g/dL}$ para o cobre eritrocitário⁸⁷.

4.6 DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE DA ENZIMA SUPERÓXIDO DISMUTASE ERITROCITÁRIA

A atividade da SOD eritrocitária foi determinada pelo método *in vitro*, em um analisador bioquímico (modelo Labmax 240, Lagoa Santa, Mg, Brasil), utilizando um *kit* disponível comercialmente (*Kit Ransod; Randox Laboratories Ltd.*), conforme metodologia recomendada pelo fabricante. A concentração de hemoglobina do hemolisado foi determinada para expressar a atividade enzimática em unidades de enzima por grama de hemoglobina (U/g Hg). Foram usados os valores de referência propostos pela *Randox* para atividade da superóxido dismutase (1.102 a 1.601 U/gHg). A leitura das amostras foi realizada em absorbância de 340 nm.

4.7 DETERMINAÇÃO DE MARCADORES DA INFLAMAÇÃO

A determinação da concentração plasmática das citocinas IL-6, IL-8, IL-12, IL-10, IL-1 beta e TNF-alfa foi realizada por meio do *kit Cytometric Bead Array™ Human Inflammatory Cytokines (BD Biosciences, United States)*, procedimento realizado em citômetro de fluxo FACS CANTO II® (Becton Dickinson). De acordo com as instruções do fabricante, as esferas de captura foram adicionadas às amostras de soro e, após 1,5 h de incubação no escuro, cada amostra foi suspensa em 1 mL de tampão de lavagem e centrifugada a $200 \times g$ por 5 min para o posterior descarte dos sobrenadantes.

O Reagente de Detecção PE de Citocina Inflamatória Humana foi adicionado a cada amostra para ressuspender o *pellet*, seguido de 1,5 h de incubação no escuro. O tampão de lavagem foi novamente adicionado às amostras e centrifugado a $200 \times g$ por 5 min. Por fim, os sobrenadantes foram cuidadosamente descartados e o *pellet* foi ressuspense em 300 μL de tampão de lavagem. A curva padrão para todas as citocinas foi inicialmente preparada e as amostras padrão foram analisadas de forma semelhante às amostras de soro. As amostras e curvas de calibração foram adquiridas utilizando o *software FACSCanto™ II (BD Biosciences, United States)*. O *software FCAP Array Infinite (Soft Flow®, Hungary)* foi usado para quantificar todas as citocinas nos padrões e amostras.

4.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados foram organizados em planilhas do Excel®, para realização de análise descritiva das variáveis observadas nos grupos estudados. Posteriormente, foram exportados para o programa SPSS (for Windows® versão 26.0) para análise estatística dos resultados.

O teste de *Kolmogorov-Smirnov* foi aplicado para verificar a normalidade dos dados. Em seguida, para fins de comparação entre os grupos estudados, o teste “t” de *Student* foi utilizado para as variáveis com distribuição normal, e o teste de *Mann-Whitney* para aquelas com distribuição não paramétrica.

Foi realizado teste para comparação das médias dos parâmetros cobre plasmático e eritrocitário e atividade da SOD eritrocitária, entre os três grupos distribuídos de acordo com o IMC: grupo I (participantes com IMC entre 35 e 39,9 kg/m^2), grupo II (participantes com IMC $\geq 40 \text{ kg/m}^2$) e grupo controle (mulheres eutróficas com IMC entre 18,5 e 24,9 kg/m^2). Para tanto, foi utilizada a Análise de Variância (ANOVA), considerando a distribuição paramétrica dos dados. Os testes *post-hoc* de *Bonferroni* e *Tukey* foram realizados.

Em relação ao estudo de correlações, o coeficiente de correlação linear de *Pearson* foi utilizado para os dados com distribuição normal, e o coeficiente de correlação de *Spearman* para aqueles com distribuição não paramétrica.

Para estudo das associações, foram aplicados o teste Qui-quadrado de Independência e Coeficiente *Phi*. Destaca-se que, em todas as análises, a diferença foi considerada estatisticamente significativa quando o valor de $p < 0,05$, adotando-se um intervalo de confiança de 95%.

5 RESULTADOS

Considerando a ocorrência de algumas limitações durante a etapa de levantamento dos resultados, destaca-se a impossibilidade da obtenção de um mesmo tamanho amostral para todas as variáveis investigadas. Assim, os dados apresentados nas tabelas possuem diferença no tamanho da amostra dos indivíduos participantes do estudo.

5.1 PARÂMETROS ANTROPOMÉTRICOS DE AVALIAÇÃO DO ESTADO NUTRICIONAL

Na Tabela 1 estão apresentados os valores médios e desvios-padrões da idade e dos parâmetros antropométricos utilizados na avaliação do estado nutricional das participantes com obesidade e grupo controle. Houve diferença estatística significativa em relação ao peso, estatura, IMC e circunferência da cintura ($p < 0,05$).

Tabela 1 - Valores médios e desvios-padrões da idade, peso corporal, estatura e IMC do grupo controle e das mulheres com obesidade. Teresina-PI, Brasil, 2022.

Parâmetros	Controle (n = 122) Média ± DP	Obesas (n = 80) Média ± DP	P
Idade (anos)	33,87 ± 9,00	33,26 ± 8,32	0,722
Peso corporal (kg)	55,51 ± 5,75	108,16 ± 18,07*	<0,001
Estatura (m)	1,58 ± 0,06	1,60 ± 0,06*	0,032
IMC (kg/m ²)	22,07 ± 1,69	41,96 ± 6,30*	<0,001
CC# (cm)	73,69 ± 5,35	114,31 ± 12,84*	<0,001

*Valores significativamente diferentes entre as pacientes com obesidade e grupo controle, teste *t* de Student ou teste *Mann-Whitney* ($p < 0,05$). IMC = índice de massa corpórea; CC = circunferência da cintura. #CC: controle, n = 119; caso, n = 76.

5.2 CONSUMO ALIMENTAR

Os valores médios e desvios-padrões de energia, macronutrientes e cobre das dietas consumidas pelas mulheres com obesidade e grupo controle estão descritos na Tabela 2. Observou-se que houve diferença estatística significativa entre os grupos em relação aos macronutrientes e cobre ($p < 0,05$). A partir da apresentação dos dados na tabela, pode-se verificar que houve redução expressiva no número de participantes do estudo em função da falta de adesão ao preenchimento do registro alimentar.

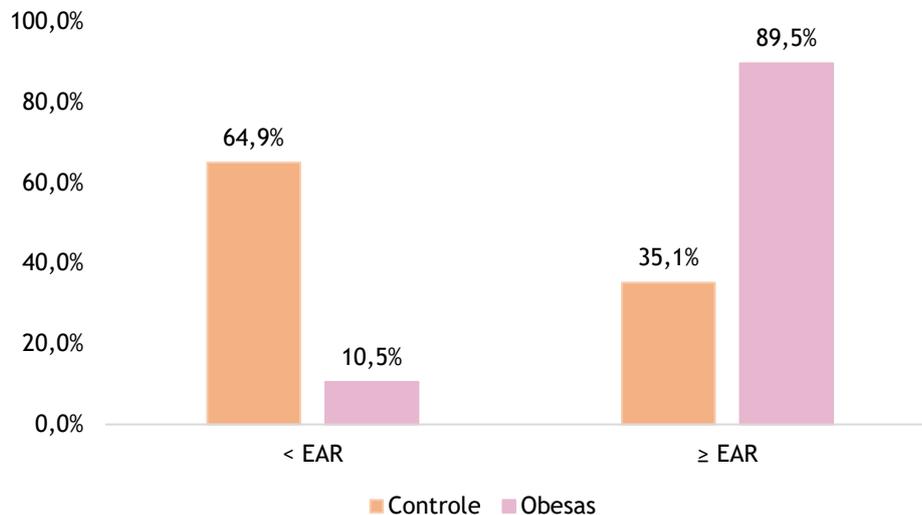
Tabela 2- Valores médios e desvios-padrões da ingestão de energia, macronutrientes e cobre do grupo controle e das mulheres com obesidade. Teresina-PI, Brasil, 2022.

Variáveis	Controle (n = 97) Média ± DP	Obesas (n = 39) Média ± DP	P
Energia (Kcal)	1560,66 ± 419,28	1702,23 ± 459,06	0,085
Carboidrato (%)	50,50 ± 7,10	56,83 ± 7,39*	<0,001
Proteína (%)	19,47 ± 3,72	10,16 ± 2,64*	<0,001
Lipídio (%)	30,03 ± 5,69	33,01 ± 5,39*	0,006
Cobre dietético (mg/dia)	0,68 ± 0,25	0,92 ± 0,23*	<0,001

Teste *t* de Student ($p > 0,05$). Valores de referência: 45 a 65% de carboidratos, 10 a 35% de proteína, e 20 a 35% de lipídio (IOM, 2005)⁷⁹; EAR = 0,7 mg cobre/dia, faixa etária > 19 anos (sexo feminino) (IOM, 2001)⁸⁰.

Na Figura 5 está apresentada a distribuição percentual das participantes com obesidade e do grupo controle segundo os valores de referência de ingestão dietética de cobre. Os resultados mostram associação entre a presença de obesidade e consumo de cobre em quantidades superiores aos valores recomendados segundo a EAR.

Figura 5 - Distribuição percentual das mulheres participantes dos grupos controle e obeso, segundo os valores de referência de ingestão dietética de cobre. Teresina-PI, Brasil, 2022.



Teste Qui-quadrado ($p < 0,001$). Coeficiente *Phi* (49%).

5.3 PARÂMETROS BIOQUÍMICOS DE AVALIAÇÃO DAS CITOCINAS INFLAMATÓRIAS E DO COBRE

Na Tabela 3 encontram-se as concentrações séricas de citocinas inflamatórias das participantes com obesidade e do grupo controle. A partir da análise desses resultados, verificou-se que não houve diferença estatística significativa para as citocinas entre os grupos, a exceção da IL-6, que teve valores superiores para as mulheres com obesidade ($p < 0,05$) e da

IL-8, que embora também possua atividade pró-inflamatória, apresentou concentrações inferiores para esse grupo populacional ($p < 0,05$).

Tabela 3 - Concentrações séricas das citocinas inflamatórias do grupo controle e das mulheres com obesidade. Teresina-PI, Brasil, 2022.

Parâmetros	Controle	Obesas	P
	Mediana (Min - Max)	Mediana (Min - Max)	
IL-12 $n = 23a$; $n = 17b$	1,01 (0,11 - 18,22)	1,12 (0,21 - 10,56)	0,934
TNF- α $n = 34a$; $n = 22b$	5,24 (0,40 - 70,09)	4,02 (0,64 - 15,19)	0,082
IL-10 $n = 28a$; $n = 22b$	1,30 (0,05 - 35,41)	0,76 (0,17 - 4,72)	0,059
IL-6 $n = 50a$; $n = 34b$	4,72 (0,33 - 74,99)	9,68 (0,07 - 60,49)*	0,013
IL-1 β $n = 39a$; $n = 27b$	1,98 (0,02 - 12,60)	1,10 (0,09 - 8,62)	0,135
IL-8 $n = 50a$; $n = 34b$	26,56 (0,83 - 202,74)	16,28 (6,44 - 62,35)*	0,006

*Valores significativamente diferentes entre as pacientes com obesidade e grupo controle, teste *t* de Student ou teste *Mann-Whitney* ($p < 0,05$). IL = Interleucina; TNF = Fator de Necrose Tumoral. a = controle; b = mulheres com obesidade.

A Tabela 4 mostra os dados da análise de correlação entre as citocinas inflamatórias. Os resultados dessa análise revelaram correlação moderada significativa e positiva entre as citocinas TNF- α e IL-1 β e as concentrações séricas de IL-10, bem como entre IL-1 β e concentrações séricas de TNF- α e IL-8 no grupo das mulheres com obesidade. Associado a isso, pode-se verificar que houve correlação moderada significativa e positiva entre IL-8 e concentrações séricas de IL-12, TNF- α , IL-6 e IL-1 β ; entre IL-1 β e concentrações séricas de TNF- α e IL-6; entre IL-6 e TNF- α , bem como entre as concentrações séricas de IL-10 e IL-12 no grupo controle.

Tabela 4 - Análise de correlação linear simples entre as concentrações séricas de citocinas das mulheres com obesidade (preenchimento azul) e grupo controle (preenchimento branco). Teresina-PI, Brasil, 2022.

Citocinas	IL-12		TNF- α		IL-10		IL-6		IL-1 β		IL-8	
	r	p	r	p	r	p	R	P	r	p	r	p
IL-12	-	-	0,353	0,317	0,382	0,197	0,039	0,861	0,208	0,476	-0,437	0,080
TNF- α	0,205	0,446	-	-	0,670*	0,012	0,087	0,701	0,536*	0,032	0,284	0,200
IL-10	0,516*	0,041	0,241	0,292	-	-	0,311	0,159	0,605**	0,008	0,179	0,425
IL-6	0,343	0,109	0,533**	0,001	0,071	0,721	-	-	0,354	0,070	0,190	0,282
IL-1 β	0,379	0,082	0,502*	0,011	0,234	0,261	0,413**	0,009	-	-	0,527**	0,005
IL-8	0,497*	0,016	0,352*	0,041	0,351	0,067	0,511**	<0,001	0,377*	0,018	-	-

*Correlação de Spearman ($p < 0,05$). IL = Interleucina; TNF = Fator de Necrose Tumoral.

As médias das concentrações plasmáticas e eritrocitárias de cobre, bem como a atividade da SOD nos eritrócitos do grupo controle e das mulheres com obesidade estão apresentados na Tabela 5. Verificou-se que houve diferença estatística significativa entre os grupos em relação a esses parâmetros ($p < 0,05$).

Tabela 5 - Valores médios e desvios-padrões dos parâmetros bioquímicos do cobre do grupo controle e das mulheres com obesidade. Teresina-PI, Brasil, 2022.

Parâmetros	Controle	Obesas	p
	(n = 122) Média ± DP	(n = 80) Média ± DP	
Cu plasmático (µg/dL)	94,20 ± 4,46	113,65 ± 5,44*	<0,001
Cu eritrocitário [#] (µg/dL)	73,98 ± 4,28	56,66 ± 5,34*	<0,001
SOD [#] (U/gHb)	2965,89 ± 594,29	2372,70 ± 566,23*	<0,001

*Valores significativamente diferentes entre as pacientes com obesidade e grupo controle, teste *t* de Student ou teste *Mann-Whitney* ($p < 0,05$). Cu = cobre; SOD = superóxido dismutase. Valores de referência: Cobre plasmático = 80 a 155 µg/dL⁸⁶; Cobre eritrocitário = 30,5-132,2 µg/dL⁸⁷. [#]Cu eritrocitário: controle, n = 97. [#]SOD: controle, n = 75; caso, n = 51.

Na Tabela 6 estão apresentados os valores médios e desvios-padrões das concentrações plasmáticas e eritrocitárias de cobre, bem como da atividade da SOD nos eritrócitos, segundo a classificação do IMC. Observou-se que houve diferença estatística entre os grupos controle e mulheres com obesidade grau II e III em relação aos parâmetros avaliados.

Tabela 6 - Valores médios e desvios-padrões dos parâmetros bioquímicos do cobre das participantes do estudo segundo a classificação do IMC. Teresina-PI, Brasil, 2022.

Parâmetros	Controle	Obesidade Grau II	Obesidade Grau III	p
	(n = 122) Média ± DP	(n = 39) Média ± DP	(n = 41) Média ± DP	
Cu plasmático (µg/dL)	94,20 ± 4,46 ^a	113,83 ± 5,24 ^b	113,47 ± 5,68 ^b	<0,001
Cu eritrocitário [#] (µg/dL)	73,98 ± 4,28 ^a	56,87 ± 4,67 ^b	56,46 ± 5,95 ^b	<0,001
SOD [#] (U/gHb)	2965,89 ± 594,29 ^a	2357,97 ± 531,73 ^b	2392,11 ± 621,04 ^b	<0,001

Teste post-hoc de Bonferroni e teste de Tukey. Valores na mesma linha com diferença estatística significativa (letras diferentes) e sem diferença estatística significativa (letras iguais). Cu = cobre; SOD = superóxido dismutase. [#]Cu eritrocitário: controle, n = 97, [#]SOD: controle, n = 75, Obesidade Grau II, n = 29, Obesidade Grau III, n = 22.

5.4 CORRELAÇÃO ENTRE CITOCINAS INFLAMATÓRIAS E PARÂMETROS DE AVALIAÇÃO DO COBRE

As Tabelas 7 e 8 mostram os resultados da análise de correlação entre as citocinas inflamatórias e parâmetros de avaliação do cobre das mulheres com obesidade e grupo controle, respectivamente. A análise revelou correlação moderada negativa e significativa entre as

concentrações séricas de TNF- α e IL-10 e a atividade da SOD no eritrócito ($p < 0,05$) no grupo com obesidade.

Tabela 7 - Análise de correlação linear simples entre as citocinas inflamatórias e os parâmetros de avaliação do cobre nas mulheres com obesidade. Teresina-PI, Brasil, 2022.

Parâmetros	Cu Dietético	Cu Plasmático	Cu eritrocitário	SODe
IL-12	n = 9 r = -0,126 p = 0,748	n = 17 r = 0,090 p = 0,732	n = 17 r = -0,039 p = 0,881	n = 8 r = 0,120 p = 0,776
TNF- α	n = 14 r = 0,246 p = 0,397	n = 22 r = -0,74 p = 0,744	n = 22 r = 0,402 p = 0,063	n = 12 r = -0,647** p = 0,009
IL-10	n = 14 r = -0,044 p = 0,881	n = 22 r = 0,157 p = 0,485	n = 22 r = -0,049 p = 0,828	n = 12 r = -0,598* p = 0,040
IL-6	n = 19 r = -0,018 p = 0,942	n = 34 r = 0,078 p = 0,659	n = 34 r = 0,171 p = 0,335	n = 20 r = 0,051 p = 0,830
IL-1B	n = 15 r = -0,182 p = 0,516	n = 27 r = 0,247 p = 0,214	n = 27 r = -0,284 p = 0,677	n = 17 r = 0,179 p = 0,492
IL-8	n = 19 r = -0,258 p = 0,287	n = 34 r = 0,310 p = 0,074	n = 34 r = -0,140 p = 0,429	n = 20 r = -0,23 p = 0,925

*Correlação de Spearman ($p < 0,05$). Cu = Cobre; IL = Interleucina; TNF = Fator de Necrose Tumoral; SODe = Superóxido dismutase eritrocitária.

Tabela 8 - Análise de correlação linear simples entre as citocinas inflamatórias e os parâmetros de avaliação do cobre nas mulheres do grupo controle. Teresina-PI, Brasil, 2022.

Parâmetros	Cu Dietético	Cu Plasmático	Cu eritrocitário	SODe
IL-12	n = 16 r = -0,007 p = 0,978	n = 23 r = -0,032 p = 0,886	n = 9 r = -0,377 p = 0,318	n = 4 r = 0,400 p = 0,600
TNF- α	n = 24 r = -0,284 p = 0,179	n = 34 r = -0,043 p = 0,809	n = 18 r = 0,330 p = 0,182	n = 12 r = -0,343 p = 0,275
IL-10	n = 20 r = -0,015 p = 0,951	n = 28 r = 0,322 p = 0,094	n = 11 r = 0,446 p = 0,169	n = 5 r = 0,300 p = 0,624
IL-6	n = 37 r = -0,232 p = 0,168	n = 50 r = -0,010 p = 0,947	n = 25 r = 0,071 p = 0,735	n = 13 r = 0,259 p = 0,394
IL-1B	n = 27 r = -0,337 p = 0,086	n = 39 r = 0,110 p = 0,505	n = 17 r = -0,284 p = 0,268	n = 6 r = 0,257 p = 0,623
IL-8	n = 37 r = -0,267 p = 0,111	n = 50 r = 0,255 p = 0,074	n = 25 r = 0,064 p = 0,762	n = 13 r = 0,451 p = 0,122

*Correlação de Spearman ($p < 0,05$). Cu = Cobre; IL = Interleucina; TNF = Fator de Necrose Tumoral; SODe = Superóxido dismutase eritrocitária.

6 DISCUSSÃO

Neste estudo, foi estimado o consumo alimentar de energia, macronutrientes e cobre em mulheres com obesidade e mulheres eutróficas, bem como foi investigada a existência de uma possível relação entre parâmetros da inflamação crônica de baixo grau e as concentrações séricas de cobre.

A determinação das citocinas inflamatórias revelou diferença estatística significativa para as concentrações séricas de IL-6 entre os grupos, sendo verificados valores superiores nas mulheres com obesidade que participaram deste estudo. Tal resultado parece refletir a influência da disfunção do tecido adiposo sobre a secreção de citocinas pró-inflamatórias, característica da obesidade, sendo concordante com os achados de Dorneles *et al.*⁸⁸, Todendi *et al.*⁸⁹ e Nikseresht⁹⁰.

As concentrações elevadas de IL-6 evidenciadas nas mulheres com obesidade podem ser decorrentes da disfunção do tecido adiposo, a qual induz a diferenciação de adipócitos e a ativação de macrófagos ativados nesse tecido. Nesse sentido, alguns estudos já demonstraram que tanto a produção excessiva de adipócitos quanto a ativação dessas células do sistema imunitário desencadeiam sinais metabólicos que potencializam a inflamação crônica de baixo grau^{91, 92}.

Por outro lado, este estudo identificou concentrações séricas de IL-8 inferiores nas mulheres com obesidade avaliadas quando comparadas ao grupo controle. Sobre tal resultado, destaca-se a sua diferença dos dados constantes na literatura, que revelam concentrações superiores dessa citocina em indivíduos com obesidade quando comparados a eutróficos^{88, 93-95}. Alguns fatores podem contribuir para fundamentar esse dado, a exemplo da qualidade das dietas consumidas por essas mulheres, em particular com relação ao tipo de lipídio e carboidrato, bem como do nível de atividade física, pois esses são fatores importantes no controle da síntese da IL-8, o que, conseqüentemente, beneficia a resposta inflamatória.

Em relação aos parâmetros de avaliação do cobre, o estudo identificou elevado teor desse micronutriente nas dietas consumidas pelas mulheres com obesidade, bem como foi verificada associação significativa entre a presença de obesidade e a ingestão dietética desse mineral em quantidades superiores às recomendações, semelhantes àqueles encontrados nos estudos de Di Toro *et al.*⁹⁶, Phelan, Abrams e Wing⁹⁷ e Tan e Soma Roy⁴⁵. Na opinião desses pesquisadores, a população com obesidade possui hábito de consumir alimentos fontes de cobre como, por exemplo, tubérculos, pães e massas, fontes alimentares desse mineral, que pode justificar esses resultados^{98, 99}.

Sobre as concentrações de cobre no plasma, pôde-se observar que as participantes de ambos os grupos apresentaram valores dentro da faixa de normalidade, no entanto, essas estavam significativamente superiores nas mulheres com obesidade. Esses dados estão de acordo com aqueles encontrados nos estudos de Yang *et al.*¹⁵ e Tinkov *et al.*¹⁷. Um fator que pode explicar a concentração de cobre elevada nesse componente sanguíneo é a existência de um antagonismo mútuo desse elemento com o zinco¹⁰⁰.

Nesse sentido, destaca-se a existência de alterações na homeostase do zinco na obesidade, pois ocorre absorção elevada desse mineral pelos adipócitos, o que contribui para a sua menor concentração no plasma, proporcionando condições favoráveis para o aumento das concentrações séricas de cobre^{101, 102}.

Outro aspecto que pode explicar as concentrações de cobre elevadas no plasma nas mulheres com obesidade diz respeito ao aumento da expressão de citocinas pró-inflamatórias, pois estas induzem a expressão de ceruloplasmina hepática e SSAO no tecido adiposo, bem como o incremento da secreção dessas cuproenzimas na corrente sanguínea^{15, 59, 103, 104}.

No entanto, a análise de correlação não identificou resultado significativo entre as citocinas inflamatórias avaliadas e as concentrações de cobre no plasma. Esse achado pode,

provavelmente, ser atribuído ao fato de não ter sido determinadas concentrações plasmáticas de ceruloplasmina, o que limita a avaliação dos efeitos diretos da inflamação crônica de baixo grau nas concentrações séricas de cobre em participantes com obesidade. Por outro lado, no estudo de Jaksic *et al.*⁵⁵ foi observada correlação positiva entre cobre plasmático e proteína C-reativa em crianças com excesso de peso.

A análise de cobre nos eritrócitos das participantes com obesidade demonstrou valores reduzidos com diferença estatística significativa quando comparados ao grupo controle, embora dentro do padrão de normalidade. De forma semelhante, Brito *et al.*¹⁰⁵ também observaram concentrações eritrocitárias reduzidas desse mineral em mulheres com obesidade. Em contrapartida, alguns estudos têm encontrado dados diferentes sobre a análise de cobre nos eritrócitos, como aqueles das pesquisas realizadas por Lima *et al.*¹⁰⁶ e Jardim-Botelho *et al.*¹⁰⁷, que não evidenciaram diferença nas concentrações eritrocitárias do mineral entre indivíduos com e sem obesidade.

Sobre a atividade da SOD nos eritrócitos, outro parâmetro de avaliação do estado nutricional relativo ao cobre, esta estava inferior nas mulheres com obesidade. Tal resultado corrobora os dados de Amirkhizi *et al.*¹⁰⁸ e Ozata *et al.*¹⁰⁹, que observaram atividade da SOD inferior nos eritrócitos de indivíduos com sobrepeso e obesidade. Esse resultado pode contribuir para explicar as concentrações reduzidas de cobre nos eritrócitos, uma vez que aproximadamente 60% do conteúdo de cobre presente nessas células estão ligadas a essa enzima. Nesse sentido, destaca-se que a presença de espécies reativas de oxigênio e citocinas pró-inflamatórias, características da disfunção do tecido adiposo, constituem fatores contribuintes para a redução da atividade da enzima SOD nos eritrócitos^{87, 110, 111}.

A análise de correlação entre as citocinas inflamatórias e a atividade da SOD nos eritrócitos revelou resultado negativo significativo entre as concentrações de TNF- α e a atividade dessa enzima nas mulheres com obesidade, sugerindo a influência dessa citocina no sistema de defesa antioxidante, na regulação da resposta inflamatória, bem como na homeostase do cobre. Em consonância com este resultado, Chen *et al.*¹¹² também observaram correlação negativa entre marcadores da inflamação e a atividade da SOD nos eritrócitos em indivíduos adultos com síndrome metabólica.

Nessa abordagem, destaca-se que o TNF- α potencializa a ativação de enzimas geradoras de espécies reativas de oxigênio, a exemplo da lipoxigenase, NADPH oxidase, mieloperoxidase e xantina oxidase, resultando na produção expressiva de espécies reativas de oxigênio, o que inicialmente estimula a síntese da SOD, mas, posteriormente, quando mantida sob a forma crônica contribui para a redução da atividade dessa enzima nos eritrócitos^{57, 113, 114}.

Os resultados da análise de correlação também demonstraram correlação negativa significativa entre a citocina IL-10 e a atividade da SOD nos eritrócitos em mulheres com obesidade. A síntese de IL-10 ocorre em resposta ao aumento da produção de citocinas pró-inflamatórias, como o TNF- α , no entanto, a provável influência dessas citocinas sobre a redução da atividade da SOD nos eritrócitos em indivíduos com obesidade ainda não tem sido esclarecida^{90, 115}.

Destaca-se que dados deste estudo parecem sugerir a existência de um possível efeito imunomodulador nas mulheres com obesidade avaliadas, pois o resultado da análise de correlação entre as citocinas IL-1 β e TNF- α e a IL-10 foi positivo, o qual sugere que essas citocinas pró-inflamatórias estimulam a síntese de IL-10^{90, 115}.

Neste estudo também foi conduzida análise de variância para obter melhor esclarecimento sobre o comportamento metabólico do cobre de acordo com o grau de adiposidade e verificou-se que mulheres com obesidade grau II e III apresentaram concentrações de cobre superiores no plasma e inferiores nos eritrócitos quando comparadas ao grupo controle. Além disso, as mulheres com obesidade grau II e III tinham atividade enzimática da SOD inferior nos eritrócitos.

É oportuno mencionar alguns aspectos que podem ter impossibilitado a realização de uma discussão mais robusta dos resultados, a exemplo falta da análise da ceruloplasmina, proteína de fase aguda com capacidade de modulação de vias inflamatórias. Além disso, o tamanho amostral e a inclusão de apenas mulheres no grupo experimental também foram fatores limitantes para o avanço da discussão desses resultados. Ainda, o fato de o levantamento da ingestão alimentar ter sido conduzido por meio da obtenção de variáveis autorrelatadas pode ter favorecido a subestimação do consumo alimentar, em particular nas mulheres com obesidade¹¹⁶. Entretanto, apesar das limitações, este é um dos poucos estudos que investigou a relação entre marcadores da inflamação crônica de baixo grau e parâmetros de avaliação do cobre em indivíduos com obesidade.

Portanto, considerando a complexidade dos mecanismos envolvidos na gênese da inflamação crônica de baixo grau, a atuação relevante de citocinas inflamatórias no desenvolvimento de comorbidades, bem como a provável influência de tais citocinas na homeostase do cobre em indivíduos com obesidade, torna-se evidente a importância da realização de pesquisas sobre o tema para melhor fundamentar a relação fisiopatológica entre essas variáveis.

7 CONCLUSÃO

- As participantes com obesidade deste estudo apresentaram ingestão de carboidratos, proteínas e lipídios dentro da faixa de recomendação, porém, consumiam dieta com alto teor de cobre;
- As mulheres com obesidade avaliadas apresentaram concentrações séricas de IL-6 elevadas quando comparadas ao grupo controle, sugerindo a presença de inflamação crônica de baixo grau;
- O estudo evidencia que as mulheres com obesidade apresentaram alterações no estado nutricional relativo ao cobre, caracterizadas por concentrações elevadas no plasma e reduzidas nos eritrócitos quando comparadas às eutróficas. No entanto, ambos os grupos possuíram valores desses parâmetros de acordo com o padrão de normalidade;
- As concentrações de TNF- α e IL-10 apresentaram associação negativa com a atividade da SOD eritrocitária, biomarcador do estado nutricional relativo ao cobre, nas mulheres com obesidade do estudo. Tal dado sugere a possível influência da inflamação crônica na distribuição do cobre em indivíduos com obesidade.

REFERÊNCIAS

1. World Health Organization. Fact sheet on obesity and overweight [Internet]. 2021 [acesso em 2021 set 11]. Disponível em: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/en/>.
2. Ramos-Lopez O, Milagro FI, Allayee H, Chmurzynska A, Choi MS, Curi R, *et al.* Guide for Current Nutrigenetic, Nutrigenomic, and Nutriepigenetic Approaches for Precision Nutrition Involving the Prevention and Management of Chronic Diseases Associated with Obesity. *J Nutrigenet Nutrigenomics*. 2017; 10(1-2): 43-62. doi: 10.1159/000477729.
3. Sousa MP, Cruz KJC, Marreiro DN, Morais JBS, Santos LR, Melo SRS, *et al.* Association between Dietary Magnesium Intake and Lipid Profile Parameters in Obese Women. *Research, Society and Development*. 2020; 9(2), 2525-3409.
4. Afshin A, Forouzanfar MH, Reitsma MB, Sur P, Estep K, Lee A, *et al.* Health Effects of Overweight and Obesity in 195 Countries over 25 Years. *N Engl J Med*. 2017; 377(1): 13-27. doi: 10.1056/NEJMoa1614362.
5. Blüher M. Obesity: global epidemiology and pathogenesis. *Nat Rev Endocrinol*. 2019; 15(5): 288-298. doi: 10.1038/s41574-019-0176-8.
6. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância de Doenças e Agravos não Transmissíveis e Promoção da Saúde. *Vigitel Brasil 2020: vigilância de fatores de risco e proteção para doenças crônicas por inquérito telefônico: estimativas sobre frequência e distribuição sociodemográfica de fatores de risco e proteção para doenças crônicas nas capitais dos 26 estados brasileiros e no Distrito Federal em 2020*. Brasília: Ministério da Saúde; 2021.
7. Niki E. Role of vitamin E as a lipid-soluble peroxy radical scavenger: in vitro and in vivo evidence. *Free Radic Biol Med*. 2014; 66: 3-12. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2013.03.022.
8. Warolin J, Coenen KR, Kantor JL, Whitaker LE, Wang L, Acra SA, Roberts LJ 2nd, Buchowski MS. The relationship of oxidative stress, adiposity and metabolic risk factors in healthy Black and White American youth. *Pediatr Obes*. 2014 Feb;9(1):43-52. doi: 10.1111/j.2047-6310.2012.00135.x.
9. Karczewski J, Śledzińska E, Baturó A, Jończyk I, Maleszko A, Samborski P, Begier-Kraśńska B, Dobrowolska A. Obesity and inflammation. *Eur Cytokine Netw*. 2018 Sep 1;29(3):83-94. doi: 10.1684/ecn.2018.0415.
10. Herrada AA, Olate-Briones A, Rojas A, Liu C, Escobedo N, Piesche M. Adipose tissue macrophages as a therapeutic target in obesity-associated diseases. *Obes Rev*. 2021 Jun;22(6):e13200. doi: 10.1111/obr.13200.
11. Reilly SM, Saltiel AR. Adapting to obesity with adipose tissue inflammation. *Nat Rev Endocrinol*. 2017;13(11):633-643. doi: 10.1038/nrendo.2017.90.

12. Al-Sheikh YA, Al-Zahrani KY. The Status of Biochemical and Molecular Markers of Oxidative Stress in Preeclamptic Saudi Patients. *Curr Mol Med*. 2018;18(7):475-485. doi: 10.2174/1566524019666190104105843.
13. Gu K, Li X, Xiang W, Jiang X. The Relationship Between Serum Copper and Overweight/Obesity: a Meta-analysis. *Biol Trace Elem Res*. 2020;194(2): 336-347. doi: 10.1007/s12011-019-01803-6.
14. Song X, Wang W, Li Z, Zhang D. Association between Serum Copper and Serum Lipids in Adults. *Ann Nutr Metab*. 2018; 73(4): 282-289. doi: 10.1159/000494032.
15. Yang H, Liu CN, Wolf RM, Ralle M, Dev S, Pierson H, Askin F, Steele KE, Magnuson TH, Schweitzer MA, Wong GW, Lutsenko S. Obesity is associated with copper elevation in serum and tissues. *Metallomics*. 2019; 11(8): 1363-1371. doi: 10.1039/c9mt00148d.
16. Fan Y, Zhang C, Bu J. Relationship between Selected Serum Metallic Elements and Obesity in Children and Adolescent in the U.S. *Nutrients*. 2017; 9(2): 104. doi: 10.3390/nu9020104.
17. Tinkov AA, Bogdański P, Skrypnik D, Skrypnik K, Skalny AV, Aaseth J, Skalnaya MG, Suliburska J. Trace Element and Mineral Levels in Serum, Hair, and Urine of Obese Women in Relation to Body Composition, Blood Pressure, Lipid Profile, and Insulin Resistance. *Biomolecules*. 2021; 11(5): 689. doi: 10.3390/biom11050689.
18. Vekic J, Zeljkovic A, Stefanovic A, Jelic-Ivanovic Z, Spasojevic-Kalimanovska V. Obesity and dyslipidemia. *Metabolism*. 2019; 92: 71-81. doi: 10.1016/j.metabol.2018.11.005.
19. Zhang T, Chen J, Tang X, Luo Q, Xu D, Yu B. Interaction between adipocytes and high-density lipoprotein: new insights into the mechanism of obesity-induced dyslipidemia and atherosclerosis. *Lipids Health Dis*. 2019; 18(1): 223. doi: 10.1186/s12944-019-1170-9.
20. Sámano R, Huesca-Gómez C, López-Marure R, Hernández-Cabrera AK, Rodríguez-Ventura A, Tolentino M, Morales RM, Gamboa R. Association between UCP polymorphisms and adipokines with obesity in Mexican adolescents. *J Pediatr Endocrinol Metab*. 2018; 31(5): 561-568. doi: 10.1515/jpem-2017-0262.
21. Banks WA, DiPalma CR, Farrell CL. Impaired transport of leptin across the blood-brain barrier in obesity. *Peptides*. 1999; 20(11): 1341-5. doi: 10.1016/s0196-9781(99)00139-4.
22. Izquierdo AG, Crujeiras AB, Casanueva FF, Carreira MC. Leptin, Obesity, and Leptin Resistance: Where Are We 25 Years Later? *Nutrients*. 2019; 11(11): 2704. doi: 10.3390/nu11112704.
23. Marreiro DN, Cruz KJC, Cominetti C. Minerais e obesidade *In: COZZOLINO, S. M. F.(org.) Biodisponibilidade de Nutrientes. São Paulo: Editora Manole, 2016. p. 705-27.*
24. Olczyk P, Koprowski R, Komosinska-Vassev K, Jura-Półtorak A, Winsz-Szczotka K, Kuźnik-Trocha K, Mencner Ł, Telega A, Ivanova D, Olczyk K. Adiponectin, Leptin, and

- Leptin Receptor in Obese Patients with Type 2 Diabetes Treated with Insulin Detemir. *Molecules*. 2017; 22(8): 1274. doi: 10.3390/molecules22081274.
25. Pérez-Torres I, Castrejón-Téllez V, Soto ME, Rubio-Ruiz ME, Manzano-Pech L, Guarner-Lans V. Oxidative Stress, Plant Natural Antioxidants, and Obesity. *Int J Mol Sci*. 2021; 22(4):1786. doi: 10.3390/ijms22041786.
26. Manna P, Jain SK. Obesity, Oxidative Stress, Adipose Tissue Dysfunction, and the Associated Health Risks: Causes and Therapeutic Strategies. *Metab Syndr Relat Disord*. 2015; 13(10): 423-44. doi: 10.1089/met.2015.0095.
27. Marseglia L, Manti S, D'Angelo G, Nicotera A, Parisi E, Di Rosa G, Gitto E, Arrigo T. Oxidative stress in obesity: a critical component in human diseases. *Int J Mol Sci*. 2014 Dec 26;16(1):378-400. doi: 10.3390/ijms16010378.
28. Amin MN, Hussain MS, Sarwar MS, Rahman Moghal MM, Das A, Hossain MZ, Chowdhury JA, Millat MS, Islam MS. How the association between obesity and inflammation may lead to insulin resistance and cancer. *Diabetes Metab Syndr*. 2019; 13(2): 1213-1224. doi: 10.1016/j.dsx.2019.01.041.
29. Kawai T, Autieri MV, Scalia R. Adipose tissue inflammation and metabolic dysfunction in obesity. *Am J Physiol Cell Physiol*. 2021; 320(3): C375-C391. doi: 10.1152/ajpcell.00379.2020.
30. Hotamisligil GS, Shargill NS, Spiegelman BM. Adipose expression of tumor necrosis factor- α : direct role in obesity-linked insulin resistance. *Science*. 1993; 259 (5091): 87-91. doi: 10.1126/science.7678183.
31. Crewe C, An YA, Scherer PE. The ominous triad of adipose tissue dysfunction: inflammation, fibrosis, and impaired angiogenesis. *J Clin Invest*. 2017; 127(1): 74-82. doi: 10.1172/JCI88883.
32. Pierson H, Yang H, Lutsenko S. Copper Transport and Disease: What Can We Learn from Organoids? *Annu Rev Nutr*. 2019; 39: 75-94. doi: 10.1146/annurev-nutr-082018-124242.
33. Baker ZN, Cobine PA, Leary SC. The mitochondrion: a central architect of copper homeostasis. *Metallomics*. 2017; 9(11): 1501-1512. doi: 10.1039/c7mt00221a.
34. Bhattacharjee A, Chakraborty K, Shukla A. Cellular copper homeostasis: current concepts on its interplay with glutathione homeostasis and its implication in physiology and human diseases. *Metallomics*. 2017; 9(10): 1376-1388. doi: 10.1039/c7mt00066a.
35. Pereira TC, Campos MM, Bogo MR. Copper toxicology, oxidative stress and inflammation using zebrafish as experimental model. *J Appl Toxicol*. 2016; 36(7): 876-85. doi: 10.1002/jat.3303.
36. Doguer C, Ha JH, Collins JF. Intersection of Iron and Copper Metabolism in the Mammalian Intestine and Liver. *Compr Physiol*. 2018; 8(4): 1433-1461. doi: 10.1002/cphy.c170045.

37. Abou Zeid C, Kaler SG. Normal Human Copper Metabolism. *In: Weiss KH, Schilsky M. Wilson Disease. Academic Press, 2019. p. 17–22.*
38. Fukai T, Ushio-Fukai M, Kaplan JH. Copper transporters and copper chaperones: roles in cardiovascular physiology and disease. *Am J Physiol Cell Physiol.* 2018; 315(2): 186-201. doi: 10.1152/ajpcell.00132.2018.
39. Pierson H, Muchenditsi A, Kim BE, Ralle M, Zachos N, Huster D, Lutsenko S. The Function of ATPase Copper Transporter ATP7B in Intestine. *Gastroenterology.* 2018; 154(1): 168-180. doi: 10.1053/j.gastro.2017.09.019.
40. Hashimoto LL, Pedrosa LFC, Cominetti C, Cozzolino SMF. Cobre. *In: Cozzolino SMF.(org.). Biodisponibilidade de Nutrientes. São Paulo: Editora Manole, 2016. p. 705-727.*
41. Levy RB, Claro RM, Mondini L, Sichieri R, Monteiro C A. Regional and socioeconomic distribution of household food availability in Brazil, in 2008-2009. *Rev Saude Publica.* 2012; 46(1): 6-15.
42. Ferreira RC, Barbosa LB, Vasconcelos SML. Estudos de avaliação do consumo alimentar segundo método dos escores: uma revisão sistemática. *Ciência & Saúde Coletiva.* 2019; 24: 1777-1792.
43. Tan PY, Soma Roy M. Dietary copper and selenium are associated with insulin resistance in overweight and obese Malaysian adults. *Nutr Res.* 2021; 93: 38-47. doi: 10.1016/j.nutres.2021.06.008.
44. Jiang S, Ma X, Li M, Yan S, Zhao H, Pan Y, Wang C, Yao Y, Jin L, Li B. Association between dietary mineral nutrient intake, body mass index, and waist circumference in U.S. adults using quantile regression analysis NHANES 2007-2014. *PeerJ.* 2020; 8: e9127. doi: 10.7717/peerj.9127
45. Tureck C, Locateli G, Corrêa VG, Koehnlein EA. Avaliação da ingestão de nutrientes antioxidantes pela população brasileira e sua relação com o estado nutricional. *Revista Brasileira de Epidemiologia.* 2017; 20: 30-42.
46. Bost M, Houdart S, Oberli M, Kalonji E, Huneau JF, Margaritis I. Dietary copper and human health: Current evidence and unresolved issues. *J Trace Elem Med Biol.* 2016; 35:107-15. doi: 10.1016/j.jtemb.2016.02.006.
47. Bharathi Devi SR, Dhivya M A, Sulochana KN. Copper transporters and chaperones: Their function on angiogenesis and cellular signalling. *J Biosci.* 2016; 41(3): 487-96. doi: 10.1007/s12038-016-9629-6.
48. Trocello JM, Chappuis P, El Balkhi S, Poupon J, Leyendecker A, Chaine P, Woimant F. Anomalies du métabolisme du cuivre chez l'adulte. *La Revue de Médecine Interne,* 2010; 31(11): 750-6. doi: 10.1016/j.revmed.2009.11.012.
49. Amin MN, Siddiqui SA, Uddin MG, Ibrahim M, Uddin SMN, Adnan MT, Rahaman MZ, Kar A, Islam MS. Increased Oxidative Stress, Altered Trace Elements, and Macro-

- Minerals Are Associated with Female Obesity. *Biol Trace Elem Res.* 2020; 197(2): 384-393. doi: 10.1007/s12011-019-02002-z.
50. Morais JBS, Severo JS, de Oliveira ARS, Cruz KJC, da Silva Dias TM, de Assis RC, Colli C, do Nascimento Marreiro D. Magnesium Status and Its Association with Oxidative Stress in Obese Women. *Biol Trace Elem Res.* 2017; 175(2): 306-311. doi: 10.1007/s12011-016-0797-x.
51. Shi Y, Zou Y, Shen Z, Xiong Y, Zhang W, Liu C, Chen S. Trace Elements, PPARs, and Metabolic Syndrome. *Int J Mol Sci.* 2020; 21(7): 2612. doi: 10.3390/ijms21072612.
52. Ge W, Liu W, Liu G. The relationships between serum copper levels and overweight/total obesity and central obesity in children and adolescents aged 6-18 years. *J Trace Elem Med Biol.* 2020; 61:126557. doi: 10.1016/j.jtemb.2020.126557.
53. Azab SF, Saleh SH, Elsaeed WF, Elshafie MA, Sherief LM, Esh AM. Serum trace elements in obese Egyptian children: a case-control study. *Ital J Pediatr.* 2014; 40: 20. doi: 10.1186/1824-7288-40-20.
54. Sudhahar V, Das A, Horimatsu T, Ash D, Leanhart S, Antipova O, Vogt S, Singla B, Csanyi G, White J, Kaplan JH, Fulton D, Weintraub NL, Kim HW, Ushio-Fukai M, Fukai T. Copper Transporter ATP7A (Copper-Transporting P-Type ATPase/Menkes ATPase) Limits Vascular Inflammation and Aortic Aneurysm Development: Role of MicroRNA-125b. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2019; 39(11): 2320-2337. doi: 10.1161/ATVBAHA.119.313374.
55. Jaksic M, Martinovic M, Gligorovic-Barhanovic N, Vujacic A, Djurovic D, Nedovic-Vukovic M. Association between inflammation, oxidative stress, vitamin D, copper and zinc with pre-obesity and obesity in school children from the city of Podgorica, Montenegro. *J Pediatr Endocrinol Metab.* 2019; 32(9): 951-957. doi: 10.1515/jpem-2019-0086.
56. Liang J, Chen F, Fang G, Zhang X, Li Y, Ma B, Lin S, Pan J, Zhang Z. Relationship Between Plasma Copper Concentration and Body Fat Distribution in Children in China: a Cross-Sectional Study. *Biol Trace Elem Res.* 2020; 198(2): 430-439. doi: 10.1007/s12011-020-02105-y.
57. Habib SA, Saad EA, Elsharkawy AA, Attia ZR. Pro-inflammatory adipocytokines, oxidative stress, insulin, Zn and Cu: Interrelations with obesity in Egyptian non-diabetic obese children and adolescents. *Adv Med Sci.* 2015; 60(2): 179-85. doi: 10.1016/j.advms.2015.02.002.
58. Jeong SY, Shim HY, Lee YJ, Park B. Association between Copper-Zinc Ratio in Hair and Neutrophil-Lymphocyte Ratio within the Context of a Normal White Blood Cell Count among Overweight or Obese Korean Individuals: A Pilot Study. *Korean J Fam Med.* 2021; 42(3): 240-244. doi: 10.4082/kjfm.20.0018.
59. Malavolta M, Piacenza F, Basso A, Giacconi R, Costarelli L, Mocchegiani E. Serum copper to zinc ratio: Relationship with aging and health status. *Mech Ageing Dev.* 2015; 151: 93-100. doi: 10.1016/j.mad.2015.01.004.

60. Olechnowicz J, Tinkov A, Skalny A, Suliburska J. Zinc status is associated with inflammation, oxidative stress, lipid, and glucose metabolism. *J Physiol Sci*. 2018; 68(1): 19-31. doi: 10.1007/s12576-017-0571-7.
61. Torkanlou K, Bibak B, Abbaspour A, Abdi H, Saleh Moghaddam M, Tayefi M, Mohammadzadeh E, Safarian Bana H, Aghasizade M, Ferns GA, Avan A, Ghayour Mobarhan M. Reduced Serum Levels of Zinc and Superoxide Dismutase in Obese Individuals. *Ann Nutr Metab*. 2016; 69(3-4): 232-236. doi: 10.1159/000454894.
62. Brasil. Ministério da Saúde. Resolução nº466/12. Aprova diretrizes e normas regulamentadoras de pesquisas envolvendo seres humanos. *Diário Oficial da União*. Brasília, 2012.
63. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. Orientações para a coleta e análise de dados antropométricos em serviços de saúde: Norma Técnica do Sistema de Vigilância Alimentar e Nutricional - SISVAN / Ministério da Saúde, Secretaria de Atenção à Saúde, Departamento de Atenção Básica. – Brasília: Ministério da Saúde, 2011.
64. Nolasco MPB. Diagnóstico clínico e laboratorial – composição corporal. In: Fisberg M. *Obesidade na infância e adolescência*. São Paulo: Fundação BYK, 1995. cap.3, p.28-35.
65. World Health Organization. *Obesity: Preventing and managing the global epidemic*. Technical report series, Geneva, 2000. 894, p. 9.
66. World Health Organization. *Waist Circumference and Waist–Hip Ratio: Report of a WHO Expert Consultation*. Geneva, 2011.
67. Anção MS, Cuppari L, Draine AS, Singulem D. Programa de apoio à nutrição Nutwin: versão 1.5. São Paulo: Departamento de Informática em Saúde, SPDM, Unifesp/EPM, 2002. 1 CDROM.
68. Núcleo de Estudos e Pesquisas em Alimentação – NEPA. *Tabela Brasileira de Composição de Alimentos – TACO*. 4. ed. Campinas: NEPA; 2011. 164 p.
69. Brasil. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística – IBGE. *Pesquisa de orçamentos familiares 2008–2009: análise do consumo alimentar pessoal no Brasil*. Rio de Janeiro: IBGE, Coordenação de Trabalho e Rendimento, 2011.
70. Haubrock J, Nöthlings U, Volatier JL, Dekkers A, Ocké M, Harttig U, Illner AK, Knüppel S, Andersen LF, Boeing H; European Food Consumption Validation Consortium. Estimating usual food intake distributions by using the multiple source method in the EPIC-Potsdam Calibration Study. *J Nutr*. 2011 May;141(5):914-20. doi: 10.3945/jn.109.120394
71. MSM. *Multiple Source Method (MSM) for estimating usual dietary intake from short-term measurement data: user guide*. EFCOVAL: Potsdam, 2011. 41p.

72. Laureano GH, Torman VB, Crispim SP, Dekkers AL, Camey SA. Comparison of the ISU, NCI, MSM, and SPADE Methods for Estimating Usual Intake: A Simulation Study of Nutrients Consumed Daily. *Nutrients*. 2016; 8(3): 166. doi: 10.3390/nu8030166.
73. Souverein OW, Dekkers AL, Geelen A, Haubrock J, de Vries JH, Ocké MC, Harttig U, Boeing H, van 't Veer P; EFCOVAL Consortium. Comparing four methods to estimate usual intake distributions. *Eur J Clin Nutr*. 2011 Jul;65 Suppl 1:S92-101. doi: 10.1038/ejcn.2011.93.
74. Sartorelli DS, Barbieri P, Perdoná GC. Fried food intake estimated by the multiple source method is associated with gestational weight gain. *Nutr Res*. 2014; 34(8): 667-73. doi: 10.1016/j.nutres.2014.07.008.
75. Fisberg RM, Marchioni DML, Slater B, Martini LA. *Inquéritos alimentares: Métodos e Bases Científicas*. São Paulo: Manole, 2005.
76. Jaime PC, Latorre MRDO, Fornés NS, Zerbini CAF. Comparative study among two methods for energy adjustment for nutrient intake. *Nutrire*. 2003; 26(1): 11-8.
77. Willett W, Stampfer MJ. Total energy intake: implications for epidemiologic analyses. *Am J Epidemiol*. 1986; 124(1): 17-27. doi: 10.1093/oxfordjournals.aje.a114366.
78. Willett WC, Howe GR, Kushi LH. Adjustment for total energy intake in epidemiologic studies. *Am J Clin Nutr*. 1997; 65(4 Suppl): 1220-28. doi: 10.1093/ajcn/65.4.1220S.
79. Institute Of Medicine. Food And Nutrition Board. *Dietary Reference Intakes for Energy, Carbohydrate, Fiber, Fat, Fatty Acids, Cholesterol, Protein, and Amino Acids*. Washington, DC: National Academy Press: 2005.
80. Institute Of Medicine. *Dietary Reference Intakes for Vitamin A, Vitamin K, Arsenic, Boron, Chromium, Copper, Iodine, Iron, Manganese, Molybdenum, Nickel, Silicon, Vanadium, and Zinc*. Washington, DC: National Academy Press, 2001.
81. Instituto Adolfo Lutz. *Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz: métodos químicos e físicos para análise de alimentos*. 3a. ed. São Paulo, 1985, v.1 , p. 57-59.
82. Whitehouse RC, Prasad AS, Rabbani PI, Cossack ZT. Zinc in plasma, neutrophils, lymphocytes, and erythrocytes as determined by flameless atomic absorption spectrophotometry. *Clin Chem*. 1982; 28(3): 475-80.
83. Błażewicz A, Klatka M, Astel A, Partyka M, Kocjan R. Differences in trace metal concentrations (Co, Cu, Fe, Mn, Zn, Cd, And Ni) in whole blood, plasma, and urine of obese and nonobese children. *Biol Trace Elem Res*. 2013; 155(2): 190-200. doi: 10.1007/s12011-013-9783-8.
84. Harrington JM, Young DJ, Essader AS, Sumner SJ, Levine KE. Analysis of human serum and whole blood for mineral content by ICP-MS and ICP-OES: development of a mineralomics method. *Biol Trace Elem Res*. 2014; 160(1): 132-42. doi: 10.1007/s12011-014-0033-5.

85. Niedzielski P; Siepak M. Analytical methods for determining arsenic, antimony and selenium in environmental samples. *Pol J Environ Stud.* 2003; 12(6): 653- 667, 2003.
86. Burtis CA, Ashwood ER. *Fundamentos de química clínica.* Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1998.
87. Vitoux D, Arnaud J, Chappuis P. Are copper, zinc and selenium in erythrocytes valuable biological indexes of nutrition and pathology? *J Trace Elem Med Biol.* 1999 Nov;13(3):113-28. doi: 10.1016/S0946-672X(99)80001-7.
88. Dorneles GP, Haddad DO, Fagundes VO, Vargas BK, Kloecker A, Romão PR, Peres A. High intensity interval exercise decreases IL-8 and enhances the immunomodulatory cytokine interleukin-10 in lean and overweight-obese individuals. *Cytokine.* 2016 Jan; 77: 1-9. doi: 10.1016/j.cyto.2015.10.003.
89. Todendi PF, Possuelo LG, Klinger EI, Reuter CP, Burgos MS, Moura DJ, Fiegenbaum M, Valim AR. Low-grade inflammation markers in children and adolescents: Influence of anthropometric characteristics and CRP and IL6 polymorphisms. *Cytokine.* 2016; 88: 177-183. doi: 10.1016/j.cyto.2016.09.007.
90. Nikseresht M. Comparison of Serum Cytokine Levels in Men Who are Obese or Men Who are Lean: Effects of Nonlinear Periodized Resistance Training and Obesity. *J Strength Cond Res.* 2018; 32(6): 1787-95. doi: 10.1519/JSC.0000000000002039.
91. Lasselin J, Magne E, Beau C, Ledaguenel P, Dexpert S, Aubert A, Layé S, Capuron L. Adipose inflammation in obesity: relationship with circulating levels of inflammatory markers and association with surgery-induced weight loss. *J Clin Endocrinol Metab.* 2014; 99(1): 53-61. doi: 10.1210/jc.2013-2673.
92. Li F, Li Y, Duan Y, Hu CA, Tang Y, Yin Y. Myokines and adipokines: Involvement in the crosstalk between skeletal muscle and adipose tissue. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2017; 33: 73-82. doi: 10.1016/j.cytogfr.2016.10.003.
93. Straczkowski M, Dzienis-Straczkowska S, Stêpień A, Kowalska I, Szelachowska M, Kinalska I. Plasma interleukin-8 concentrations are increased in obese subjects and related to fat mass and tumor necrosis factor-alpha system. *J Clin Endocrinol Metab.* 2002; 87(10): 4602-6. doi: 10.1210/jc.2002-020135.
94. Bruun JM, Verdich C, Toubro S, Astrup A, Richelsen B. Association between measures of insulin sensitivity and circulating levels of interleukin-8, interleukin-6 and tumor necrosis factor-alpha. Effect of weight loss in obese men. *Eur J Endocrinol.* 2003; 148(5): 535-42. doi: 10.1530/eje.0.1480535.
95. Kim CS, Park HS, Kawada T, Kim JH, Lim D, Hubbard NE, Kwon BS, Erickson KL, Yu R. Circulating levels of MCP-1 and IL-8 are elevated in human obese subjects and associated with obesity-related parameters. *Int J Obes (Lond).* 2006; 30(9): 1347-55. doi: 10.1038/sj.ijo.0803259.

96. Di Toro A, Marotta A, Todisco N, Ponticiello E, Collini R, Di Lascio R, Perrone L. Unchanged iron and copper and increased zinc in the blood of obese children after two hypocaloric diets. *Biol Trace Elem Res.* 1997; 57(2): 97-104. doi: 10.1007/BF02778192.
97. Phelan S, Abrams B, Wing RR. Prenatal Intervention with Partial Meal Replacement Improves Micronutrient Intake of Pregnant Women with Obesity. *Nutrients.* 2019; 11(5): 1071. doi: 10.3390/nu11051071.
98. Bo S, Durazzo M, Gambino R, Berutti C, Milanesio N, Caropreso A, Gentile L, Cassader M, Cavallo-Perin P, Pagano G. Associations of dietary and serum copper with inflammation, oxidative stress, and metabolic variables in adults. *J Nutr.* 2008; 138(2): 305-10. doi: 10.1093/jn/138.2.305.
99. Bénétiér C, Bertin M, Calamassi-Tran G, Dubuisson C, Dufour A, Gauchard F, et al. Etude Individuelle Nationale des Consommations Alimentaires 2 (INCA 2) (2006–2007). 2009. [Google Scholar]
100. Oestreicher P, Cousins RJ. Copper and zinc absorption in the rat: mechanism of mutual antagonism. *J Nutr.* 1985; 115(2): 159-66. doi: 10.1093/jn/115.2.159.
101. Feitosa MCP, Lima VBD, Neto JMM, Marreiro DD. Plasma concentration of IL-6 and TNF-alpha and its relationship with zincemia in obese women. *Rev Assoc Med Bras.* 2013; 59(5): 429–434. doi: 10.1016/j.ramb.2013.03.003.
102. Mota Martins L, Soares de Oliveira AR, Climaco Cruz KJ, Borges de Araujo CG, de Oliveira FE, Marreiro D de Sousa GS, do Nogueira NN. Influence of cortisol on zinc metabolism in morbidly obese women. *Nutr Hosp.* 2014; 29(1): 57–63. doi: 10.3305/nh.2014.29.1.6890.
103. Hordyjewska A, Popiołek Ł, Kocot J. The many "faces" of copper in medicine and treatment. *Biometals.* 2014; 27(4): 611– 621. doi:10.1007/s10534-014-9736-5.
104. Connaughton RM, McMorrow AM, McGillicuddy FC, Lithander FE, Roche HM. Impact of anti-inflammatory nutrients on obesity-associated metabolic-inflammation from childhood through to adulthood. *Proc Nutr Soc.* 2016; 75(2): 115-24. doi: 10.1017/S0029665116000070.
105. Brito GHR., Tajra VEF, Rocha dos Santos L, Melo SRDS, Morais JBS, Soares Severo, J, Batista Beserra J. Concentrações de cobre em mulheres obesas e sua relação com marcador da peroxidação lipídica. *Nutr. clín. diet. Hosp.* 2018: 134-139.
106. Lima SC, Arrais RF, Sales CH, Almeida MG, de Sena KC, Oliveira VT, de Andrade AS, Pedrosa LF. Assessment of copper and lipid profile in obese children and adolescents. *Biol Trace Elem Res.* 2006; 114(1-3): 19-29. doi: 10.1385/BTER:114:1:19.
107. Jardim-Botelho A, Queiroz Gurgel R, Simeone Henriques G, Dos Santos CB, Afonso Jordão A, Nascimento Faro F, Silveira Souto FM, Rodrigues Santos AP, Eduardo Cuevas L. Micronutrient deficiencies in normal and overweight infants in a low socio-economic population in north-east Brazil. *Paediatr Int Child Health.* 2016; 36(3): 198-202. doi: 10.1179/2046905515Y.0000000035.

108. Amirkhizi F, Siassi F, Djalali M, Shahraki SH. Impaired enzymatic antioxidant defense in erythrocytes of women with general and abdominal obesity. *Obes Res Clin Pract*. 2014; 8(1): 26-34. doi: 10.1016/j.orcp.2012.07.004. PMID: 24548574.
109. Ozata M, Mergen M, Oktenli C, Aydin A, Sanisoglu SY, Bolu E, Yilmaz MI, Sayal A, Isimer A, Ozdemir IC. Increased oxidative stress and hypozincemia in male obesity. *Clin Biochem*. 2002; 35(8): 627-31. doi: 10.1016/s0009-9120(02)00363-6.
110. Lewandowski Ł, Kepinska M, Milnerowicz H. The copper-zinc superoxide dismutase activity in selected diseases. *Eur J Clin Invest*. 2019; 49(1): 13036. doi: 10.1111/eci.13036.
111. Olusi S. Obesity is an independent risk factor for plasma lipid peroxidation and depletion of erythrocyte cytoprotective enzymes in humans. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 2002; 26(9): 1159- 1166.
112. Chen SJ, Yen CH, Huang YC, Lee BJ, Hsia S, Lin PT. Relationships between Inflammation, Adiponectin, and Oxidative Stress in Metabolic Syndrome. *PLoS ONE*. 2012; 7(9): e45693. doi: 10.1371/journal.pone.0045693_
113. Aguiar SS, Sousa CV, Deus LA, Rosa TS, Sales MM, Neves RVP, Barbosa LP, Santos PA, Campbell CS, Simões HG. Oxidative stress, inflammatory cytokines and body composition of master athletes: The interplay. *Exp Gerontol*. 2020; 130: 110806. doi: 10.1016/j.exger.2019.110806.
114. Fatima N, Faisal SM, Zubair S, Ajmal M, Siddiqui SS, Moin S, Owais M. Role of pro-inflammatory cytokines and biochemical markers in the pathogenesis of type 1 diabetes: correlation with age and glycemic condition in diabetic human subjects. *PloS one*, 2016; 11(8): e0161548.
115. de Waal Malefyt R, Abrams J, Bennett B, Figdor CG, de Vries JE. Interleukin 10(IL-10) inhibits cytokine synthesis by human monocytes: an autoregulatory role of IL-10 produced by monocytes. *J Exp Med*. 1991; 174(5): 1209-20. doi: 10.1084/jem.174.5.1209
116. Romieu I, Dossus L, Barquera S, Blottière HM, Franks PW, Gunter M, *et al*. Energy balance and obesity: what are the main drivers? *Cancer Causes Control*. 2017; 28(3): 247-258. doi: 10.1007/s10552-017-0869-z.

APÊNDICES

APÊNDICE A - FICHA DE CADASTRO DAS PARTICIPANTES DA PESQUISA



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO E CULTURA – MEC
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ – UFPI
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO**

*Campus Universitário Ministro Petrônio Portela, Bloco 06 – Bairro Ininga
Cep: 64049-550 – Teresina-PI – Brasil – Fone (86) 3215-5863 – Fone/Fax (86)3215-5560*

IDENTIFICAÇÃO

Nº Formulário: _____

Nome: _____

Data: ____/____/____ DN: ____/____/____ Idade: _____ anos

Endereço: _____

Bairro: _____ Cidade: _____

Telefone: _____ Celular 1: _____ Celular 2: _____

Ocupação: _____ Número de pessoas em casa: _____

HISTÓRIA CLÍNICA

- a) Tempo de obesidade: _____
- b) Fumante? _____
- c) Grávida ou Amamentando? _____
- d) Menopausa: Sim () Não () Se sim, há ____ anos.
- e) Uso de medicamentos: Sim () Não () Quais? _____
- f) Consumo de Bebidas alcoólicas: Sim () Não ()
Tipo: _____ Frequência? _____
- g) Uso de Suplementos: Sim () Não () Quais? _____
- h) Presença de doenças: Sim () Não () Qual? _____
() Diabetes () DRC () Doença Hepática () DCV () Câncer () Disf. Tireoide
- f) Pratica exercício físico? Sim () Não () Tipo de exercício físico: _____

PARÂMETROS ANTROPOMÉTRICOS

Peso (kg)	
Estatura (m)	
IMC (kg/m²)	
Circunferência da Cintura (cm)	

APÊNDICE B- TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO E CULTURA****UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO**

*Campus Universitário Ministro Petrônio Portella - Bairro Ininga – Teresina/PI
CEP: 64049-550 - Fone (86) 3215 5437.*

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Título do projeto: *Impacto de minerais em Distúrbios Endócrino-Metabólicos em Mulheres Obesas Mórbidas*

Pesquisador responsável: Dra. Dilina do Nascimento Marreiro

Instituição/Departamento: UFPI/ Departamento de Nutrição

Pesquisadores participantes: Dra. Dilina do Nascimento Marreiro, Jennifer Beatriz Silva, Larissa Cristina Fontenelle, Loanne Rocha dos Santos, Mickael de Paiva Sousa, Stéfany Rodrigues de Sousa Melo, Thayanne Gabryelle Visgueira de Sousa.

Telefone para contato (inclusive a cobrar): (86) 99473-6724 (claro)/ (86) 99434-8898

Você está sendo convidada para participar, como voluntária, em uma pesquisa. Você precisa decidir se quer participar ou não. Por favor, não se apresse em tomar a decisão. Leia cuidadosamente o que se segue e pergunte ao responsável pelo estudo sobre qualquer dúvida que tiver. Este estudo será conduzido pelas Doutorandas Jennifer Beatriz Silva Moraes, Larissa Cristina Fontenelle, Loanne Rocha dos Santos e Stéfany Rodrigues de Sousa Melo; e pelos Mestrandos Mickael de Paiva Sousa e Thayanne Gabryelle Visgueira de Sousa, sob orientação da Profa. Dra. Dilina do Nascimento Marreiro. Após ser esclarecida sobre as informações a seguir, no caso de aceitar fazer parte do estudo, assine este documento, que está em duas vias. Uma delas é sua e a outra é do pesquisador responsável. Em caso de recusa, você não será penalizada. Em caso de dúvida, você pode procurar o Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal do Piauí pelo telefone (086) 3237-2332.

DESCRIÇÃO DA PESQUISA

Esta pesquisa tem por objetivo avaliar o estado nutricional relativo ao magnésio, selênio, zinco e cobre e sua relação com distúrbios endócrino-metabólicos em mulheres obesas mórbidas. Para tanto, a participante será submetida à coleta de sangue venoso para análise do zinco, magnésio, selênio, cobre, colesterol total, HDL-colesterol, triglicérides, TSH, T3 e T4 livres, T3 e T4 totais, anticorpos tireoideanos antitireoperoxidase e antitireoglobulina, zinco- α 2-glicoproteína, leptina, glicose, insulina, cortisol, cortisona, selenoproteína P, adiponectina, proteína C reativa, IL-6, IL-8, IL-12, IL-10, IL-1 β e TNF- α , substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico, isoprostanos, creatinina sérica, malondialdeído, bem como à coleta de urina para determinação de zinco, magnésio e selênio urinário, cortisol urinário e creatininúria de 24h e, além disso, será determinado o consumo alimentar por meio de registros alimentares. Não será realizada entrevista gravada ou filmada.

Será também quantificado a expressão dos genes codificantes para: Akt, IRS, GLUT4, PI3K, AMPK, leptina, receptor de leptina, adiponectina, zinco- α 2-glicoproteína, selenoproteína P, selenoproteína S, SELENBP1, TRPM7, ATGL, LHS, CD36, FAS, UCP, PPAR- γ , CEBP α , SREBP-1c, receptores B3-adrenérgicos, NF-kB, MAPK8, metalotioneína, Zip 14, deiodinases, receptores de hormônios tireoidianos e de glicorticoides, 11 β -HSD1, 11 β -HSD2, NADPH oxidase, Nrf2, superóxido dismutase, glutatona peroxidase e catalase; quantificar a concentração de zinco, magnésio e selênio no tecido adiposo, bem como quantificar a expressão de microRNAs envolvidos nos distúrbios metabólicos na obesidade.

Ao participar da pesquisa, a participante não sofrerá nenhum prejuízo, no entanto, as perguntas presentes na ficha de cadastro e no registro alimentar, poderá trazer possível constrangimento da participante. Além disso, em vista da coleta do material biológico requerido para realização desta pesquisa, a participante poderá sentir leve desconforto, ocorrência de eventuais hematomas, dor e sangramento e, em casos mais raros, infecção. A fim de minimizar esses riscos, a coleta será realizada por profissional de enfermagem experiente, utilizando materiais estéreis e descartáveis, e a equipe estará preparada para auxiliar a participante diante de qualquer intercorrência.

As participantes do estudo terão como benefícios os resultados dos exames bioquímicos das amostras de sangue e de urina, que serão fornecidos após a realização dos mesmos, e orientação nutricional. Em qualquer etapa do estudo, você terá acesso aos profissionais responsáveis pela pesquisa para esclarecimento de eventuais dúvidas. Se você tiver alguma consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Universidade Federal do Piauí (Campus Universitário Ministro Petrônio Portela, Bairro Ininga, Pró Reitoria de Pesquisa – PROPESQ, CEP: 64.049-550, Teresina, Piauí, Brasil; telefone: (86) 3237-2332.

Se você concordar em participar do estudo, seu nome e identidade serão mantidos em sigilo. A menos que requerido por lei ou por sua solicitação, somente o pesquisador, a equipe do estudo, Comitê de Ética independente e inspetores de agências regulamentadoras do governo (quando necessário) terão acesso a suas informações para verificar as informações do estudo. O projeto terá duração de quatro anos, com término previsto para o ano de 2024.

Nomes e assinaturas dos pesquisadores

Jennifer Beatriz Silva Morais _____

Larissa Cristina Fontenelle _____

Loanne Rocha dos Santos _____

Mickael de Paiva Sousa _____

Stéfany Rodrigues de Sousa Melo _____

Thyanne Gabryelle Visgueira de Sousa _____

Dilina do Nascimento Marreiro _____

CONSENTIMENTO DA PARTICIPAÇÃO DA PESSOA COMO SUJEITO

Eu, _____, RG _____, CPF _____, abaixo assinado, concordo em participar do estudo “*Impacto de minerais em distúrbios endócrino-metabólicos*”, como sujeito. Tive pleno conhecimento das informações que li ou que foram lidas para mim, descrevendo o estudo. Discuti com as Doutorandas Jennifer Beatriz Silva Morais, Larissa Cristina Fontenelle, Loanne Rocha dos Santos e Stéfany Rodrigues de Sousa Melo, e com os Mestrandos Mickael de Paiva Sousa e Thayanne Gabryelle Visgueira de Sousa, sobre a minha decisão em participar desse estudo. Ficaram claros para mim quais serão os propósitos do estudo, os procedimentos a serem realizados, seus desconfortos e riscos, as garantias de confidencialidade e de esclarecimentos permanentes. Ficou claro também que minha participação é isenta de despesas. Concordo, voluntariamente, em participar deste estudo e poderei retirar o meu consentimento a qualquer momento, antes ou durante o mesmo. A retirada do consentimento ao estudo não acarretará penalidades ou prejuízos.

Teresina

____/____/____

Assinatura da participante

Presenciamos a solicitação de consentimento, esclarecimentos sobre a pesquisa e aceite do sujeito em participar.

Testemunhas (não ligadas à equipe de pesquisadores):

Nome: _____

Assinatura: _____

Nome: _____

Assinatura: _____

Observações complementares _____

APÊNDICE C - REGISTRO ALIMENTAR

Registro diário de sua alimentação

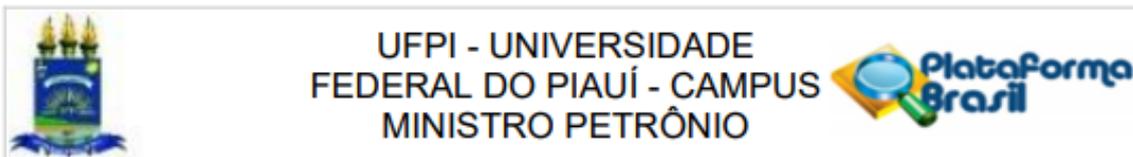
Número do Formulário: _____

- ❖ Nós vamos avaliar sua alimentação. Pedimos que anote neste registro alimentar **tudo** que você **comer e beber** durante todo o dia e à noite. Você deverá anotar todos os alimentos consumidos, sendo 2 dias durante a semana e um dia no final de semana, totalizando 3 dias.
 - ❖ Durante o preenchimento deste registro alimentar, alguns aspectos são importantes:
 1. Preencher logo **após o consumo** do alimento;
 2. Especificar as **marcas** dos alimentos industrializados;
 3. Procurar identificar o **tamanho** das frutas, vegetais, pedaços de carne, ou a **quantidade** que cada alimento é consumido, bem como o tipo de preparação (**frito, cozido, assado**) e caso haja molho, que tipo foi utilizado.
 4. Diferenciar qual o **utensílio** é usado, por exemplo:
 1. Colher – de chá, de sobremesa, de sopa, de servir ou concha
 2. Xícara – de chá ou de café
 3. Copo – grande ou de requeijão (americano)
 4. Prato de sobremesa
- 5. Consumo mensal de óleo e sal da família:**



ANEXOS

ANEXO A – PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DA EMENDA

Título da Pesquisa: Impacto de minerais em distúrbios endócrino-metabólicos

Pesquisador: Dilina do Nascimento Marreiro

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 66921117.7.0000.5214

Instituição Proponente: Universidade Federal do Piauí - UFPI

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 3.276.485

Apresentação do Projeto:

Extraído das Informações Básicas:

Segundo os autores, atualmente, os minerais têm sido alvo de pesquisas com intuito de esclarecer a influência destes nos distúrbios endócrino-metabólicos presentes em obesos. O zinco é importante por sua atuação como nutriente antioxidante, anti-inflamatório, indutor da secreção de insulina e sensibilizador da ação desse hormônio. O magnésio destaca-se por sua ação no metabolismo de ácidos nucleicos, manutenção da membrana plasmática, metabolismo energético e controle da inflamação crônica, estresse oxidativo e resistência à insulina. Outro elemento com ação importante é o selênio por possuir funções fisiológicas relevantes, com atividade antioxidante e anti-inflamatória, sendo essencial para síntese e função de selenoproteínas. Portanto, esse estudo objetiva avaliar o impacto de minerais em distúrbios endócrino-metabólicos em mulheres obesas. Estudo de natureza transversal, analítico, com caso e controle, envolvendo 400 mulheres, na faixa etária entre 20 e 50 anos de idade. Serão realizadas avaliação antropométrica, coleta de material biológico e registro alimentar. A avaliação antropométrica será realizada por meio do índice de massa corpórea, da circunferência da cintura e do pescoço, e da relação cintura-quadril e da impedância bioelétrica. A análise da ingestão de macronutrientes, zinco, magnésio e selênio será realizada por meio do registro alimentar de três dias, utilizando o programa Nutwin. A

Endereço: Campus Universitário Ministro Petrônio Portella.
Bairro: Ininga **CEP:** 64.049-550
UF: PI **Município:** TERESINA
Telefone: (86)3237-2332 **Fax:** (86)3237-2332 **E-mail:** cep.ufpi@ufpi.edu.br



UFPI - UNIVERSIDADE
FEDERAL DO PIAUÍ - CAMPUS
MINISTRO PETRÔNIO



Continuação do Parecer: 3.276.485

análise dos minerais no plasma, eritrócito, urina e tecido será realizada por espectrometria de emissão óptica com plasma acoplado indutivamente. A determinação da ferritina sérica será realizada segundo o método de quimioluminescência. A determinação do Ferro sérico será conduzida segundo o método colorimétrico. A determinação da ferritina sérica será realizada segundo o método de quimioluminescência. A determinação do Ferro sérico será conduzida segundo o método colorimétrico. A capacidade de ligação ao ferro será determinada no soro pelo o método Goodwin modificado capacidade de ligação ao ferro será determinada no soro pelo o método Goodwin modificado. As concentrações séricas de glicose e insulina serão determinadas por meio do método enzimático colorimétrico e quimioluminescência, respectivamente. A resistência à insulina será avaliada por meio do cálculo do índice HOMA-IR. A determinação da concentração sérica da proteína BMP-9 e de selenoproteína P será realizada de acordo com o método ELISA. A avaliação das concentrações de cortisol sérico e urinário será realizada segundo o método de quimioluminescência. As concentrações séricas de colesterol total, LDL-colesterol, HDL-colesterol e triglicérides serão determinadas segundo método enzimático colorimétrico, por analisador bioquímico automático. A determinação da concentração sérica de zinco-2-glicoproteína será realizada de acordo com o método ELISA do tipo sanduíche. Serão analisados os hormônios TSH, T3 e T4 livres, e T3 e T4 totais pelo método de imunoenensaio por quimioluminescência. Os anticorpos tireoideanos antitireoperoxidase (TPOAb) e antitireoglobulina (TgAb) serão determinados pelo método de quimioluminescência. As concentrações plasmáticas do malondialdeído serão determinadas pela produção das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS). A atividade da enzima superóxido dismutase eritrocitária e glutatona peroxidase eritrocitária serão determinadas nos eritrócitos pelo método in vitro e da oxidação da glutatona reduzida por um hidropéroxido, respectivamente. A determinação da atividade da enzima catalase será realizada conforme metodologia descrita por Takahara et al. A análise de isoprostanos urinários será determinada por ELISA. A determinação da concentração plasmática de TNF-, IL-6, IL-1, IL-1Ra, IL-18, IL-10, TGF-, adiponectina e leptina será realizada de acordo com o método Luminex xMAP. A concentração sérica da proteína C reativa será realizada por imunoturbidimetria. A creatinina sérica e a creatininúria de 24h serão determinadas pelo método Lustosa-Basques. Serão coletadas amostras de tecido adiposo visceral e subcutâneo das pacientes obesas durante o intraoperatório de cirurgia bariátrica e do grupo controle durante o intraoperatório de cirurgia para hérnia abdominal e colecistectomia para

Endereço: Campus Universitário Ministro Petrônio Portella.

Bairro: Ininga

CEP: 64.049-550

UF: PI

Município: TERESINA

Telefone: (86)3237-2332

Fax: (86)3237-2332

E-mail: cep.ufpi@ufpi.edu.br



UFPI - UNIVERSIDADE
FEDERAL DO PIAUÍ - CAMPUS
MINISTRO PETRÔNIO



Continuação do Parecer: 3.276.485

investigar o padrão de expressão dos marcadores Akt, IRS,

GLUT4, PI3K, AMPK, leptina, receptor de leptina, adiponectina, zinco-2-glicoproteína, selenoproteína P, selenoproteína S, SELENBP1, TRPM7, ATGL, LHS, CD36, FAS, UCP, PPAR-, CEBP, SREBP-1c, receptores B3-adrenérgicos, NF-kB, MAPK8, metalotioneína, Zip 14, TNF-, IL-6, IL-1, IL-1Ra, IL-18, IL-10, TGF-, deiodinases, receptores de hormônios tireoidianos e de glicocorticoides, 11-HSD1, 11-HSD2, NADPH oxidase, Nrf2, superóxido dismutase, glutathiona peroxidase e catalase, e microRNAs envolvidos em distúrbios metabólicos na obesidade.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

Avaliar o impacto de minerais em distúrbios endócrino-metabólicos em mulheres obesas.

Objetivo Secundário:

- Determinar as concentrações de zinco, magnésio e selênio plasmático, eritrocitário e urinário;
- Estimar o consumo alimentar de energia, macro e micronutrientes e sua adequação na dieta;
- Quantificar a concentração de zinco, magnésio e selênio no tecido adiposo;
- Determinar as concentrações de cortisol, cortisona, ACTH, zinco-2-glicoproteína, selenoproteína P, adiponectina, leptina, proteína C reativa, hormônios e anticorpos tireoidianos, TNF-, IL-6, IL-1, IL-1Ra, IL-18, IL-10 e TGF-, substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico e isoprostanos;
- Avaliar o perfil lipídico, o controle glicêmico, a resistência à insulina e a função renal;
- Determinar a atividade da enzima superóxido dismutase, glutathiona peroxidase e catalase;
- Quantificar a expressão de genes codificantes para Akt, IRS, GLUT4, PI3K, AMPK, leptina, receptor de leptina, adiponectina, zinco-2-glicoproteína, selenoproteína P, selenoproteína S, SELENBP1, TRPM7, ATGL, LHS, CD36, FAS, UCP, PPAR-, CEBP, SREBP-1c, receptores B3-adrenérgicos, NF-kB, MAPK8, metalotioneína, Zip 14, TNF-, IL-6, IL-1, IL-1Ra, IL-18, IL-10, TGF-, deiodinases, receptores de hormônios tireoidianos e de glicocorticoides, 11-HSD1, 11-HSD2, NADPH oxidase, Nrf2, superóxido dismutase, glutathiona peroxidase e catalase;
- Quantificar a expressão de microRNAs envolvidos nos distúrbios metabólicos na obesidade.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Extraído do TCLE atualizado.

Ao participar da pesquisa, a participante não sofrerá nenhum prejuízo, no entanto, as perguntas presentes na ficha de cadastro e no registro alimentar, poderá trazer possível constrangimento da participante. Além disso, em vista da coleta do material biológico requerido para realização desta

Endereço: Campus Universitário Ministro Petrônio Portella.

Bairro: Ininga

CEP: 64.049-550

UF: PI

Município: TERESINA

Telefone: (86)3237-2332

Fax: (86)3237-2332

E-mail: cep.ufpi@ufpi.edu.br



UFPI - UNIVERSIDADE
FEDERAL DO PIAUÍ - CAMPUS
MINISTRO PETRÔNIO



Continuação do Parecer: 3.276.485

pesquisa, a participante poderá sentir leve desconforto, ocorrência de eventuais hematomas, dor e sangramento e, em casos mais raros, infecção. A fim de minimizar esses riscos, a coleta será realizada por profissional de enfermagem experiente, utilizando materiais estéreis e descartáveis, e a equipe estará preparada para auxiliar a participante diante de qualquer intercorrência.

As participantes do estudo terão como benefícios os resultados dos exames bioquímicos das amostras de sangue e de urina, que serão fornecidos após a realização dos mesmos, e orientação nutricional.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Pesquisa relevante para a ciência da nutrição.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Todos os termos de apresentação obrigatória foram anexados.

Recomendações:

Utilizar uma linguagem menos técnica na elaboração do TCLE.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Conclusão:

"A emenda trata da adição de algumas análises no material biológico coletado das participantes, incluindo marcadores de expressão gênica, na perspectiva de estudar vias de sinalização envolvidas nos distúrbios endócrinometabólicos associados à obesidade. Além disso, aumentou-se o número amostral do estudo, bem como foi prolongado o cronograma de execução do projeto". Diante do exposto, sendo os aspectos mencionados possíveis de serem solicitados em uma EMENDA ao projeto, somos de PARECER FAVORÁVEL à continuidade deste projeto.

Solicita-se que seja enviado ao CEP/UFPI/CMPP o relatório parcial e o relatório final desta pesquisa. Os modelos encontram-se disponíveis no site: <http://ufpi.br/cep>

Considerações Finais a critério do CEP:

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_1328974_É1.pdf	08/04/2019 17:06:06		Aceito

Endereço: Campus Universitário Ministro Petrônio Portella.

Bairro: Ininga

CEP: 64.049-550

UF: PI

Município: TERESINA

Telefone: (86)3237-2332

Fax: (86)3237-2332

E-mail: cep.ufpi@ufpi.edu.br



UFPI - UNIVERSIDADE
FEDERAL DO PIAUÍ - CAMPUS
MINISTRO PETRÔNIO



Continuação do Parecer: 3.276.485

TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	tclenovo.pdf	08/04/2019 17:05:44	Dilina do Nascimento Marreiro	Aceito
Outros	Emenda_projeto.pdf	08/04/2019 10:51:15	Dilina do Nascimento Marreiro	Aceito
Folha de Rosto	folhaderosto.pdf	05/04/2019 11:57:33	Dilina do Nascimento Marreiro	Aceito
Outros	cartadeencaminhamento.pdf	10/04/2017 16:24:27	Dilina do Nascimento Marreiro	Aceito
Outros	curriculo.pdf	10/04/2017 16:21:58	Dilina do Nascimento Marreiro	Aceito
Declaração de Pesquisadores	declaracaodospesquisadores.pdf	10/04/2017 15:59:50	Dilina do Nascimento Marreiro	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLEmorbidas.pdf	10/04/2017 15:57:18	Dilina do Nascimento Marreiro	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE.pdf	10/04/2017 15:57:03	Dilina do Nascimento Marreiro	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	projeto comite de etica.docx	21/03/2017 14:52:18	Dilina do Nascimento Marreiro	Aceito
Orçamento	ORCAMENTO.docx	21/03/2017 14:50:30	Dilina do Nascimento Marreiro	Aceito
Outros	Urina.docx	21/03/2017 14:48:58	Dilina do Nascimento Marreiro	Aceito
Outros	Registro alimentar.docx	21/03/2017 14:47:58	Dilina do Nascimento Marreiro	Aceito
Outros	Ficha de cadastro.docx	21/03/2017 14:45:56	Dilina do Nascimento Marreiro	Aceito
Outros	termo de confidencialidade.jpeg	21/03/2017 14:43:39	Dilina do Nascimento Marreiro	Aceito

Endereço: Campus Universitário Ministro Petrônio Portella.

Bairro: Ininga **CEP:** 64.049-550

UF: PI **Município:** TERESINA

Telefone: (86)3237-2332 **Fax:** (86)3237-2332 **E-mail:** cep.ufpi@ufpi.edu.br



Continuação do Parecer: 3.278.485

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

TERESINA, 22 de Abril de 2019

Assinado por:

**Maria do Socorro Ferreira dos Santos
(Coordenador(a))**

Endereço: Campus Universitário Ministro Petrônio Portella.

Bairro: Ininga

CEP: 64.049-550

UF: PI

Município: TERESINA

Telefone: (86)3237-2332

Fax: (86)3237-2332

E-mail: cep.ufpi@ufpi.edu.br