



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

JENNIFER BEATRIZ SILVA MORAIS

**ASSOCIAÇÃO ENTRE CORTISOL, PARÂMETROS DO ZINCO E RESISTÊNCIA
À INSULINA EM MULHERES OBESAS**

TERESINA - PI

2018

JENNIFER BEATRIZ SILVA MORAIS

**ASSOCIAÇÃO ENTRE CORTISOL, PARÂMETROS DO ZINCO E RESISTÊNCIA
À INSULINA EM MULHERES OBESAS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Alimentos e Nutrição da Universidade Federal do Piauí como requisito para obtenção do título de mestre em Alimentos e Nutrição.

Linha de Pesquisa: Diagnóstico e Intervenções Nutricionais

Orientadora: Prof^a Dr^a Dilina do Nascimento Marreiro

TERESINA – PI

2018

JENNIFER BEATRIZ SILVA MORAIS

**ASSOCIAÇÃO ENTRE CORTISOL, PARÂMETROS DO ZINCO E RESISTÊNCIA
À INSULINA EM MULHERES OBESAS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Alimentos e Nutrição da Universidade Federal do Piauí como requisito para obtenção do título de mestre em Alimentos e Nutrição.

Linha de Pesquisa: Diagnóstico e Intervenções Nutricionais

Aprovada em ____/____/____

Banca examinadora:

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

1º Examinador: Dr. Ginivaldo Victor Ribeiro do Nascimento

2º Examinador: Prof^a. Dr^a Karoline de Macêdo Gonçalves Frota

Examinador Suplente: Prof^a. Dr^a. Cecília Maria Resende Gonçalves de Carvalho

“Dedico este trabalho aos meus pais, Rogério e Marina, por todo apoio e amor incondicional. Essa vitória é de vocês! Meus irmãos, Jordânia e Jonathan, pelo incentivo direto e indireto. Meu amor, Moisés, por estar ao meu lado nos melhores e piores momentos. A minha orientadora, Prof^a Dilina Marreiro, pela confiança, paciência, incentivo e excelente orientação.”

AGRADECIMENTOS

A Deus, que está sempre ao meu lado me protegendo, iluminando meus passos e dando forças para continuar lutando pelos meus sonhos. Muito obrigada por ter me dado essa oportunidade, por ter colocado tantas pessoas maravilhosas no meu caminho que estiveram comigo em todos os momentos, nos tristes e alegres.

Aos meus pais, que amo tanto, por sempre terem me apoiado e se esforçarem ao máximo para que eu pudesse conquistar os meus sonhos, sempre pensando no melhor para mim! Vocês são os melhores pais do mundo! Espero um dia poder retribuir o que tudo o que fizeram por mim, embora saiba nada nunca irá pagar o amor e cuidado incondicional de vocês!

Aos meus irmãos por todo o incentivo e compreensão em todos esses anos. Sei que muitas coisas foram sacrificadas por essa vitória. Saibam que sempre poderão contar comigo para que vocês alcancem seus sonhos. Agradeço de coração!

A meu amigo e companheiro Moisés, por todo cuidado, atenção, carinho e paciência em todos esses anos. Obrigada por apoiar meus sonhos, ajudar nas minhas conquistas e vibrar com cada vitória! Você é o melhor. Te amo!

À Universidade Federal do Piauí, por meio do Programa de Pós-graduação em Alimentos e Nutrição, pela oportunidade de crescimento acadêmico.

Ao corpo docente do Programa de Pós-graduação em Alimentos e Nutrição, pelo empenho em fazer ciência e pela dedicação para que o programa cresça em qualidade. Aprendi com cada um de vocês!

Aos funcionários do Departamento de Nutrição Sra. Máisa, Sra Graça, Sr. Osvaldo, Sr Gilson, Tiago, Gerciane pelo carinho e disponibilidade em todos os momentos. Em especial, a Karol, por toda paciência, ajuda, palavras de incentivo, disponibilidade, carinho e tantas outras coisas que nem sei como agradecer. A Luana do PPGAN, por sua dedicação com os alunos da pós, carinho, auxílio, amizade e pela disponibilidade em todos os momentos. Nunca vou conseguir palavras suficientes para agradecer.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela bolsa de estudos concedida.

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

À minha orientadora Profa. Dra. Dilina do Nascimento Marreiro, pessoa maravilhosa, alegre, divertida, de um coração tão grande que me motiva a ser uma pessoa melhor. Sou tão grata a Deus por tê-la colocado no meu caminho. Profa, você é o marco mais importante na minha escolha pela pesquisa, minha inspiração,

exemplo de profissional e modelo de mestre que sempre terei. Como se não bastasse ter sido abençoada pela melhor orientadora que alguém poderia ter, ganhei uma amiga, companheira e muitas vezes, uma mãe. Muito obrigada professora pelos ensinamentos, pela oportunidade de vivenciar o meio científico, pela dedicação, confiança, paciência, amizade e carinho. Quando crescer, quero ser como a senhora!

Ao Dr. George Macêdo, por nos possibilitar a vivência no Hospital Gastrovita que foi imprescindível para conclusão da pesquisa. Ao Dr. Gustavo Santos, por disponibilizar o seu tempo à nossa pesquisa e por ser sempre atencioso e preocupado com o andamento das atividades. Ao professor Dr. Gilberto Simeone, pelo apoio, paciência e pela parceria que foi essencial para conclusão do meu mestrado.

Às minhas companheiras de pesquisa, Juliana e Jéssica, por toda parceria que tivemos, conhecimentos compartilhados, auxílio em momentos difíceis e por tornar a condução da pesquisa tão leve e divertida. Muito obrigada por me ajudarem a vivenciar esse momento! Amo vocês!

À família Lanex, pelo acolhimento, e realmente serem um família fora da minha casa. As minhas menininhas, já deixo aqui expresso meu amor por cada uma de vocês. A Priscila, Daila e Larissa por estarem sempre solícitas em todas as atividades necessárias.

À Kyria, pessoa iluminada e de Deus, muito obrigada por todo carinho e cuidado nessa reta final com os dados da pesquisa. Nunca irei conseguir pagar o que você fez por mim. Obrigada pela amizade, carinho e conhecimentos sempre compartilhados em todos esses anos. MUITÍSSIMO obrigada, de todo o meu coração!

À minha querida Ana Raquel, por ser minha confidente, amiga e conselheira. Obrigada pelo sua calma, paciência e apoio na conclusão desse trabalho, que mesmo cansada, estava disposta a ajudar de uma forma que nem compreendo. Muito obrigada por tudo que fez por mim. Você mora no meu coração!

À Stéfany e Loanne pela amizade, pelo companheirismo e apoio nos momentos de desespero, pelos sorrisos e abraços nos momentos de felicidade, pelas palavras certas nos momentos certos. Obrigada Stef por ser minha parceira nas músicas da vida e Loanne pela parceria na jogatina! Saibam que sou grata por tudo!

Aos meus queridos colaboradores Vanessa, Gleyce, Layse, Diana, Thyanne e Mickael, pelo indispensável apoio para condução desta pesquisa e pelas palavras amigas nos momentos difíceis. Sem vocês, nada disso seria possível. Muito Obrigada!!!

A todos que, direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho, meus sinceros agradecimentos!

RESUMO

MORAIS, J. B. S. **Associação entre cortisol, parâmetros do zinco e resistência à insulina em mulheres obesas**. 2018. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Alimentos e Nutrição, Universidade Federal do Piauí, Teresina-PI.

INTRODUÇÃO: A obesidade é caracterizada por alterações no metabolismo do cortisol, que podem favorecer a manifestação de hipozincemia em obesos, fator contribuinte para comprometimento da ação da insulina. Assim, o objetivo desse estudo foi avaliar a associação entre o cortisol, parâmetros do zinco e resistência à insulina em mulheres obesas. **METODOLOGIA:** Estudo caso-controle envolvendo mulheres na faixa etária entre 20 e 50 anos de idade que foram distribuídas em dois grupos: grupo caso (mulheres obesas) e controle (mulheres eutróficas). Foram realizadas medidas do peso corporal, estatura, circunferência da cintura e cálculo do índice de massa corpórea. A análise da ingestão de zinco foi realizada por meio de registro alimentar de três dias, utilizando o programa *Nutwin*, versão 1.5. Os parâmetros bioquímicos do zinco foram determinadas segundo o método de espectrometria de emissão óptica com plasma acoplado indutivamente. As concentrações séricas de glicose e insulina de jejum foram determinadas pelo método colorimétrico e quimioluminescência, respectivamente. As concentrações de cortisol no soro e hemoglobina glicada foram determinadas pelo método de eletroquimioluminescência e cromatografia de troca iônica, respectivamente. A resistência à insulina foi avaliada por meio do cálculo do índice HOMA-IR e HOMA2-IR. Os dados foram analisados por meio do programa estatístico SPSS for Windows 20.0. **RESULTADOS:** As concentrações séricas de cortisol não apresentaram diferença estatística entre os grupos ($p>0,05$). Os valores médios do consumo de zinco estavam superiores às recomendações, sem diferença estatística entre os grupos estudados ($p>0,05$). As mulheres obesas possuíam concentrações plasmáticas e eritrocitárias de zinco reduzidas, quando comparadas ao grupo controle ($p<0,05$). As concentrações de zinco urinário das mulheres obesas estavam superiores ao grupo controle, com diferença estatística ($p<0,05$). Não houve diferença estatística entre os grupos estudados em relação à glicose e insulina de jejum, HOMA-IR e HOMA 2 ($p>0,05$). A análise da hemoglobina glicada das pacientes obesas mostraram valores superiores, quando comparadas ao grupo controle ($p>0,05$). Não houve correlação entre o cortisol sérico, biomarcadores do zinco e parâmetros glicêmicos avaliados ($p>0,05$). **CONCLUSÃO:** Na amostra de mulheres obesas não se observou elevação nas taxas de cortisol e resistência insulínica. No entanto, apresentam comprometimento no estado nutricional relativo ao zinco. Além disso, a análise de regressão linear múltipla entre o cortisol sérico, parâmetros do zinco e controle glicêmico não demonstra influência desse hormônio sobre o metabolismo desse mineral e resistência à insulina.

Palavras-Chave: Obesidade. Cortisol. Zinco. Resistência à Insulina.

ABSTRACT

MORAIS, J. B. S. **Association between cortisol, zinc parameter and insulin resistance in obese women.** 2018. Thesis (Master) – Master's Program in Food and Nutrition, Federal University of Piauí, Teresina, Piauí.

INTRODUCTION: Obesity is characterized by change in cortisol metabolism, which may cause hypozincemia in obese individuals, a contributing factor for impaired insulin action. Thus, the objective of this study was to evaluate the association between cortisol, zinc parameters and insulin resistance in obese women.

METHODS: Case-control study involving women in the age group between 20 and 50 years old, who were divided: case group (obese women with a body mass index ≥ 35 kg / m²) and control group (women with a body mass between 18.5 and 24.9 kg / m²). Measurements of body weight, height, waist circumference and body mass index were performed. The zinc intake analysis was performed using a three-day food registration using Nutwin software, version 1.5. The biochemical parameters of the zinc were determined according to the method of inductively coupled plasma optical emission spectrometry. Serum glucose and fasting insulin was determined by colorimetry and chemiluminescence, respectively. Serum cortisol concentrations and plasma glycated hemoglobin were determined by electrochemiluminescence and ion exchange chromatography, respectively. Insulin resistance was assessed by calculating the HOMA-IR and HOMA2 index. Data were analyzed using the statistical software SPSS for Windows 20.0

RESULTS: Serum cortisol concentrations did not present statistical difference between the groups ($p > 0.05$). The mean values of zinc consumption were higher than the recommendations, with no statistical difference between the groups studied ($p > 0.05$). Obese women had reduced plasma and erythrocyte zinc concentrations when compared to the control group ($p < 0.05$). The urinary zinc concentrations of obese women were higher than the control group, with statistical difference ($p < 0.05$). There was no statistically significant difference between the groups in relation to glucose and fasting insulin, HOMA-IR and HOMA 2 ($p > 0.05$). The glycated hemoglobin analysis of obese patients showed higher values when compared to the control group ($p > 0.05$). There was no correlation between serum cortisol, zinc biomarkers and glycemic parameters evaluated ($p > 0.05$).

CONCLUSION: In the sample of obese women there was no increase in cortisol and insulin resistance rates. However, they present a compromise in the nutritional status of zinc. In addition, multiple linear regression analysis between serum cortisol, zinc parameters and glycemic control does not demonstrate the influence of this hormone on the metabolism of this mineral and insulin resistance.

Key words: Obesity. Cortisol. Zinc. Insulin Resistance

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Distribuição de zinco no organismo.	17
Figura 2 - Mecanismos envolvidos na participação do cortisol sobre a manifestação da resistência à insulina.	22
Figura 3 - Ação do Cortisol sobre o Metabolismo do Zinco.	23
Figura 4 - Participação do zinco em mecanismos envolvidos na via de sinalização da insulina.	26
Figura 5 - Fluxograma das etapas realizadas com as participantes do estudo.	31
Figura 6 - Distribuição percentual das participantes obesas e grupo controle segundo os valores de referência de ingestão dietética de zinco. Teresina-PI, Brasil, 2018.	43
Figura 7 - Valores médios e desvios-padrão das concentrações séricas de cortisol das participantes obesas e grupo controle. Teresina-PI, Brasil, 2018.	44
Figura 8 – Distribuição percentual das participantes obesas e grupo controle segundo os valores de referência de zinco plasmático. Teresina-PI, Brasil, 2018.	46
Figura 9 – Distribuição percentual das participantes obesas e grupo controle segundo os valores de referência de zinco eritrocitário. Teresina-PI, Brasil, 2018.	47
Figura 10 – Distribuição percentual das participantes obesas e grupo controle segundo os valores de referência de zinco urinário. Teresina-PI, Brasil, 2018.	48

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1** - Valores médios e desvios-padrão da idade, peso corporal, estatura, índice de massa corpórea e circunferência da cintura do grupo controle e participantes obesas. Teresina-PI, Brasil, 2018. **42**
- Tabela 2** - Valores médios e desvios-padrão da ingestão de energia, macronutrientes e zinco do grupo controle e participantes obesas. Teresina-PI, Brasil, 2018. **43**
- Tabela 3** - Valores médios e desvios-padrão das concentrações plasmáticas, eritrocitárias e urinárias de zinco do grupo controle e participantes obesas. Teresina-PI, Brasil, 2018. **45**
- Tabela 4** - Distribuição das concentrações plasmáticas, eritrocitárias e urinárias de zinco das participantes por faixa de IMC. Teresina-PI, Brasil, 2018. **46**
- Tabela 5** - Valores médios e desvios-padrão dos parâmetros do controle glicêmico do grupo controle e participantes obesas. Teresina-PI, Brasil, 2018. **49**
- Tabela 6** – Análise de correlação linear simples entre os parâmetros antropométricos e controle glicêmico das participantes do estudo. Teresina-PI, Brasil, 2018.. **49**
- Tabela 7** – Análise de correlação linear simples entre os parâmetros do zinco, cortisol e controle glicêmico nas pacientes obesas. Teresina-PI, Brasil, 2018. **50**
- Tabela 8** – Análise de correlação linear simples entre os parâmetros do zinco, cortisol e controle glicêmico no grupo controle. Teresina-PI, Brasil, 2018. **51**

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

11β-HSD	11 β -hidroxiesteroide desidrogenase tipo 1
ANOVA	Análise de variância
AGNE	Ácidos graxos não esterificados
AKT	Proteína quinase
AMDR	Faixa de distribuição aceitável dos macronutrientes
AMPK	Proteína quinase ativada por AMP
ATP	Adenosina trifosfato
CAPES	Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior
CC	Circunferência da cintura
CRIP	Proteína intestinal rica em cisteína
DRIs	<i>Dietary Reference Intakes</i>
EAR	<i>Estimated Average Requirement</i>
EDTA	Ácido etileno diaminotetracético
FOXO	<i>Forkhead box protein O1</i>
GLUT	Transportador de glicose
Grb	Fator de crescimento 2
Gsk	Glicogênio sintase quinase
HbA1	Hemoglobina glicada
HPA	Eixo Hipotalâmico Pituitário Adrenal
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
ICP/OES	Espectrometria de emissão óptica com plasma acoplado indutivamente
IL	Interleucina
IMC	Índice de massa corpórea
IOM	<i>Institute of Medicine</i>
IRAP	Aminopectidase responsiva à insulina
IRS	Substratos do receptor de insulina
K⁺	Potássio
MSM	Multiple Source Method
MTF-1	Fator de transcrição metal responsivo 1
mTOR	<i>Mammalian target of rapamycin</i>
PDK	Fosfatidilinositol 3-quinase

PIP3	Fostatidilinositol 3,4,5-trifosfato
PTEN	Fosfatidilinositol 3- quinase
Ras	Proteína Codificada pelo proto-oncogene <i>ras</i>
RDA	<i>Recommended Dietary Allowance</i>
RNA	Ácido ribonucleico
Shc	Proteína homóloga ao colágeno com domínio SH2
SOS	<i>Son of Sevenless</i>
SPSS	<i>Statistical Package for the Social Sciences</i>
TACO	Tabela Brasileira de Composição de Alimentos
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
UFPI	Universidade Federal do Piauí
WHO	<i>World Health Organization</i>
ZIP	<i>Zrt-and Irt-like proteins</i>
ZN	Zinco
ZnT	<i>Zinc transporter</i>

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	14
2 REFERENCIAL TEÓRICO.....	16
2.1 Aspectos Metabólicos do Zinco.....	16
2.2 Obesidade, Resistência à Insulina e Cortisol.....	19
2.3 Ação do Cortisol sobre o Metabolismo do Zinco: Repercussões sobre a Resistência à Insulina.....	222
3 OBJETIVOS.....	287
3.1 Objetivo Geral.....	287
3.2 Objetivos Específicos.....	287
4 METODOLOGIA.....	28
4.1 Caracterização do Estudo e Protocolo Experimental.....	28
4.2 Avaliação Antropométrica.....	29
4.2.1 Peso Corporal (kg) e Estatura (cm).....	30
4.2.2 Índice de Massa Corpórea (IMC).....	31
4.2.3 Circunferência da Cintura (cm).....	32
4.3 Avaliação do Consumo Alimentar.....	32
4.4 Coleta do Material Biológico.....	34
4.4.1 Coleta de sangue.....	34
4.4.1 Coleta da urina de 24 horas.....	34
4.5 Preparo da Amostra para Determinação dos Parâmetros Bioquímicos.....	35
4.5.1 Controle de Contaminação e Preparo dos Reagentes.....	35
4.5.2 Separação dos Componentes do Sangue e Urina.....	35
4.6 Determinação do Cortisol Sérico.....	36
4.7 Determinação do Zinco no Plasma, Eritrócito e Urina.....	36
4.7.1 Determinação da hemoglobina.....	37
4.8 Determinação do Controle Glicêmico.....	38

4.8.1	Concentração Sérica de Glicose de Jejum.....	38
4.8.2	Concentração Sérica de Insulina de Jejum	38
4.8.3	Hemoglobina glicada.....	38
4.9	Caracterização da Resistência à Insulina	38
4.9.1	Cálculo do índice HOMA-IR	38
4.9.2	Cálculo do índice de HOMA2-IR	39
4.10	Análise Estatística.....	39
5	RESULTADOS.....	41
5.1	Parâmetros antropométricos de avaliação do estado nutricional	41
5.2	Consumo alimentar	41
5.3	Parâmetros Bioquímicos de Avaliação do Cortisol e Zinco	433
5.4	Controle Glicêmico	477
5.5	Correlação entre Parâmetros do Cortisol, Zinco e Controle Glicêmico	49
6	DISCUSSÃO.....	51
7	CONCLUSÃO.....	56
	REFERÊNCIAS.....	57
	APÊNDICES.....	678
	APÊNDICE A - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO.....	68
	APÊNDICE B - FICHA DE CADASTRO DAS PARTICIPANTES DA PESQUISA..	72
	APÊNDICE C - REGISTRO ALIMENTAR.....	723
	APÊNDICE D – INSTRUÇÕES ÀS PARTICIPANTES QUANTO À OBTENÇÃO DE URINA DE 24 HORAS.....	745
	ANEXOS.....	756
	ANEXO A – PARECER CONSUBSTANCIADO DO COMITÊ DE ÉTICA/UFPI.....	77

1 INTRODUÇÃO

A obesidade é definida como acúmulo excessivo de gordura corporal que pode prejudicar a saúde e aumentar a mortalidade (WHO, 2012). Essa doença aumenta o risco de desenvolvimento de diversas comorbidades como diabetes mellitus tipo 2, doenças cardiovasculares e câncer (CRUZ et al., 2017; MORAIS et al., 2017; OLIVEIRA et al., 2015).

Na patogênese da obesidade, ressaltam-se alguns aspectos que são considerados importantes por contribuírem para a manifestação de comorbidades, dentre eles, destacam-se as desordens hormonais e metabólicas como o estresse oxidativo, inflamação crônica de baixo grau e a resistência à insulina (SCHERER et al., 2012; SHIBATA et al., 2017).

Recentemente, tem havido um interesse crescente no que diz respeito aos distúrbios hormonais presentes na obesidade (FONTENELLE et al., 2017; MARTINS et al., 2014; MOLICA et al., 2015). Nesse sentido, estudos têm demonstrado alterações no metabolismo de diversos hormônios, a exemplo do cortisol, um glicocorticoide com secreção e sensibilidade alteradas em indivíduos obesos (GEER et al., 2014; MARTINS et al., 2014). A desregulação do eixo hipotalâmico-pituitário-adrenal (HPA) contribui para sua hiperresponsividade, aumentando a secreção de cortisol, o que constitui fator de risco para diversas desordens metabólicas (CHAO et al., 2017; RODRIGUES et al., 2015).

O cortisol atua como importante regulador da função endócrina, do metabolismo e diferenciação de adipócitos, contribuindo na adipogênese e aumento dos estoques de gordura visceral (CHAO et al., 2017; DESARZENS et al., 2016; PECKETT et al., 2011). Além disso, esse glicocorticoide exerce papel relevante na via de sinalização da insulina, pois prejudica a sensibilidade à ação desse hormônio em diversos tecidos, com consequente redução na captação de glicose, contribuindo para a manifestação da resistência à insulina (KAMBLE et al., 2016; GEER et al., 2014).

Nessa temática, outro ponto importante a ser destacado, diz respeito à influência do cortisol no metabolismo de micronutrientes, a exemplo do zinco. Esse hormônio pode induzir a expressão gênica da metalotioneína e da proteína transportadora de zinco ZIP-14, proteínas que “sequestram” o zinco plasmático para diversos tecidos, como hepático e adiposo, favorecendo a manifestação de

hipozincemia, em particular na obesidade (BURY et al., 2008; FEITOSA et al., 2012; NOH et al., 2014).

Nesse contexto, destaca-se que o zinco desempenha papel fundamental na síntese, armazenamento e ação da insulina por estimular os receptores desse hormônio, proteger as células hepáticas e pancreáticas contra radicais livres, e participar na estabilização dos hexâmeros de insulina, sendo um nutriente com função importante na sensibilidade à ação da insulina (COOPER-CAPETINI et al., 2017; RANASINGHE et al., 2015).

Portanto, considerando a influência do cortisol sobre a distribuição do zinco em organismos de indivíduos obesos, o que conseqüentemente pode ser um fator contribuinte para comprometer à ação da insulina, bem como a inconsistência de dados na literatura sobre o tema, torna-se evidente a necessidade de estudos que possam evidenciar a associação entre esses marcadores e ainda os mecanismos que participam dessa interação.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Aspectos Metabólicos do Zinco

O zinco constitui um dos minerais traços essenciais de maior importância na saúde humana, por atuar como cofator de mais de 300 enzimas e 2000 fatores de transcrição, além de ser um importante mediador da sinalização celular (CHEN et al., 2016; JUROWSKI et al., 2014). Atua principalmente como nutriente sensibilizador da ação da insulina, antioxidante e anti-inflamatório, confere estabilidade estrutural às membranas celulares e é um importante regulador da expressão gênica e do sistema endócrino (FOSTER et al., 2014; FUNG et al., 2015; JANSEN et al., 2012).

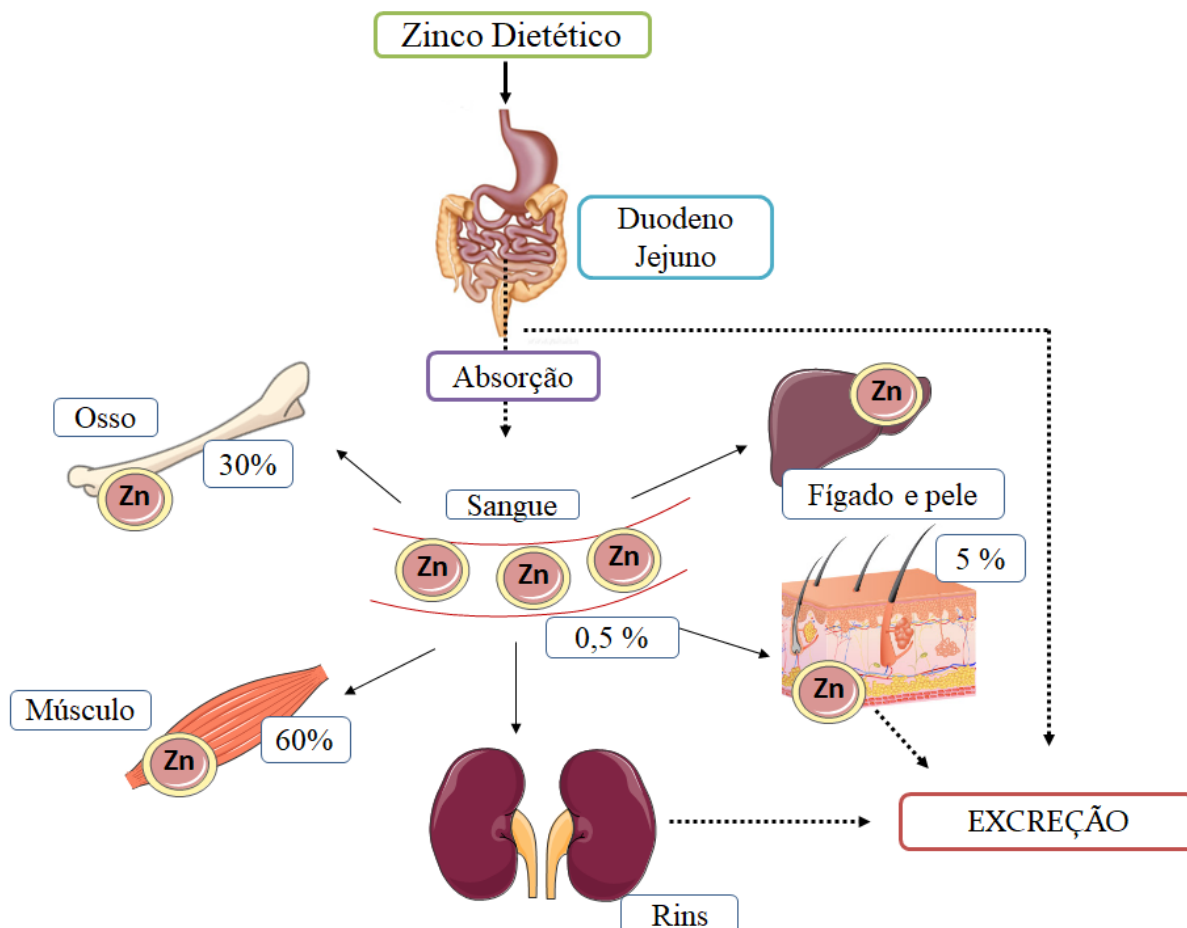
Um indivíduo adulto saudável possui entre 2 e 3 gramas de zinco, distribuídos em todos os tecidos, fluidos e secreções, sendo que aproximadamente 90% desse total encontram-se nos músculos esqueléticos (57%) e nos ossos (29%), 11% na pele e no fígado e o restante nos demais tecidos. Apenas uma pequena parte, cerca de 0,5%, do conteúdo total de zinco no organismo encontra-se no sangue (Figura 1), com concentrações plasmáticas adequadas variando entre 75 a 110 $\mu\text{mol/L}$ e eritrocitárias entre 40 a 44 $\mu\text{g/gHb}$ (CHASAPIS et al., 2012; LOWE; FEKETE; DECSI, 2009).

A homeostase do zinco no organismo é regulada por mecanismos adaptativos, que controlam tanto a absorção quanto a excreção desse mineral. É importante mencionar que o organismo não dispõe de estoque funcional para esse micronutriente, portanto a ingestão adequada de zinco na dieta deve ser garantida a fim de manter suas concentrações plasmáticas (BONAVENTURA et al., 2015; GIBSON, 2012).

Após a ingestão, o zinco pode ser absorvido por meio de proteínas transportadoras e, também, por difusão simples, o que depende da ingestão dietética desse mineral. A absorção ocorre principalmente na porção proximal do intestino delgado, é regulada por transportadores nos enterócitos e é dependente da concentração luminal desse mineral, sendo otimizada quando a quantidade de zinco na dieta está reduzida. É oportuno destacar que todo o intestino delgado tem a capacidade de absorver zinco e estudos recentes também evidenciam a

participação do cólon nesse processo (GOPALSAMY et al., 2015; YANG et al., 2013).

Figura 1. Distribuição de zinco no organismo.



Fonte: Adaptado de Kambe et al. (2015)

Ressalta-se a existência de fatores que podem influenciar a absorção intestinal de zinco. Os fitatos, por exemplo, possuem capacidade de quelar o zinco e outros minerais, formando complexos resistentes à ação do trato intestinal que diminuem a disponibilidade do mineral (MILLER; HAMBIDGE; KREBS, 2015; TROESCH et al., 2013). A vitamina A por sua vez, tem sido identificada com uma promotora da absorção de zinco, por formar complexo intestinal com o mineral, mantendo-o solúvel no lúmen intestinal e prevenindo os efeitos inibitórios dos fitatos (GAUTAM; PLATEL; SRINIVASAN, 2010).

Nas células intestinais, a metalotioneína é responsável pela regulação homeostática da absorção de zinco. Alguns fatores podem influenciar a expressão

gênica dessa proteína, incluindo os glicocorticoides e ingestão elevada de zinco na dieta. Outra proteína presente na mucosa intestinal é a proteína intestinal rica em cisteína (CRIP), que atua como um transportador intracelular de zinco, aumentando sua taxa de absorção em situações de deficiência. A metalotioneína também regula a ligação do zinco à CRIP, reduzindo a absorção do mineral em situações de teor dietético elevado de zinco (CHASAPIS et al., 2012; GOPALSAMY et al., 2015).

Após o processo de absorção, no qual o zinco entra no enterócito através da membrana apical e é liberado na circulação pela membrana basolateral dessa célula, esse mineral é transportado ligado à albumina e a outras proteínas e aminoácidos na corrente sanguínea até o fígado para então, ser distribuído para os diversos tecidos nos quais exerce sua função biológica. A excreção desse mineral ocorre pelos rins, pela descamação das células epidérmicas, e pelas fezes (WANG; ZHOU, 2010).

A recomendação de ingestão diária de zinco baseia-se na estimativa da quantidade desse mineral que é necessária para repor o zinco excretado do organismo diariamente (HUNT; BEISEIGEL; JOHNSON, 2008). A ingestão dietética recomendada (*Recommended Dietary Allowance*– RDA) desse mineral é de 11 mg/dia e 8 mg/dia para homens e mulheres, respectivamente (INSTITUTE OF MEDICINE, 2001). As fontes alimentares mais importantes de zinco são alimentos de origem animal, onde encontra-se ligado a proteínas, principalmente em carnes, aves, peixes, fígado e mariscos. Cereais integrais, feijões e derivados da soja também constituem boas fontes alimentares desse mineral (FOSTER et al., 2014; GIBSON, 2012).

A avaliação do estado nutricional relativo ao zinco pode ser obtida por meio da combinação de dados dietéticos, bioquímicos e clínicos. Neste sentido, é importante destacar que o zinco plasmático é um biomarcador largamente utilizado, evidenciando alterações recentes na sua homeostase, visto que esse parâmetro bioquímico responde rapidamente à mudanças hormonais e à ingestão dietética desse micronutriente (HUNT, 2008).

É oportuno ressaltar que muitos fatores podem influenciar os valores de zinco plasmático, como infecção, inflamação, hemólise, estresse e controle homeostático, indicando uma falsa deficiência desse mineral (GIBSON, 2012). Dessa forma, a avaliação das concentrações eritrocitárias de zinco pode fornecer

uma melhor resposta na avaliação à longo prazo do *status* desse mineral, devido à meia-vida longa dos eritrócitos (120 dias) (WIERINGA et al., 2015).

Atualmente, não existe um método acurado, sensível e universalmente aceito para a avaliação do estado nutricional do zinco que seja capaz de ampliar o limitado entendimento das possíveis associações entre este oligoelemento e as doenças crônicas. No entanto, é oportuno mencionar que diversas pesquisas já utilizaram tais marcadores para avaliação do zinco (COMINETTI; GARRIDO-JÚNIOR; COZZOLINO, 2006; MARRERO et al., 2006; WIERINGA et al., 2015).

É importante mencionar que o avanço no conhecimento da biologia molecular e a identificação das proteínas envolvidas no transporte de zinco têm contribuído para um melhor entendimento sobre a regulação do metabolismo deste oligoelemento à nível molecular (KAMBE et al., 2015). As proteínas transportadoras de zinco SLC39, também conhecidas como ZIPs, aumentam a concentração desse mineral no citoplasma por promover sua captação do ambiente extracelular ou sua liberação das vesículas para o citoplasma. A família SLC30 de transportadores iônicos, ou ZnTs, controlam o efluxo de zinco do citoplasma para as vesículas intracelulares ou para o espaço extracelular, o que contribui para sua disponibilidade no plasma (KAMBE; HASHIMOTO; FUJIMOTO, 2014).

2.2 Obesidade, Resistência à Insulina e Cortisol

Sobre a atuação do cortisol na manifestação da resistência à insulina em indivíduos obesos, esse hormônio atua como antagonista funcional da insulina e regula negativamente a captação de glicose, pois libera substratos energéticos para a oxidação mitocondrial durante o estresse, aumentando a proteólise muscular, lipólise do tecido adiposo e gliconeogênese hepática, comprometendo a utilização da glicose (Figura 2) (HACKETT; KIVIMÄKI; KUMARI, 2016; KAMBLE et al., 2016).

O papel do cortisol na regulação da função do tecido adiposo é bastante complexo e controverso. Esse glicocorticoide induz a diferenciação de pré-adipócitos em adipócitos maduros, mas também a lipólise do tecido adiposo em algumas situações. A exposição crônica a esse hormônio promove a expansão do tecido adiposo, o que prejudica a ação da insulina, resultando em hiperglicemia e dislipidemia (CHAO et al., 2017; BENBAIBECHE et al., 2015). O cortisol parece

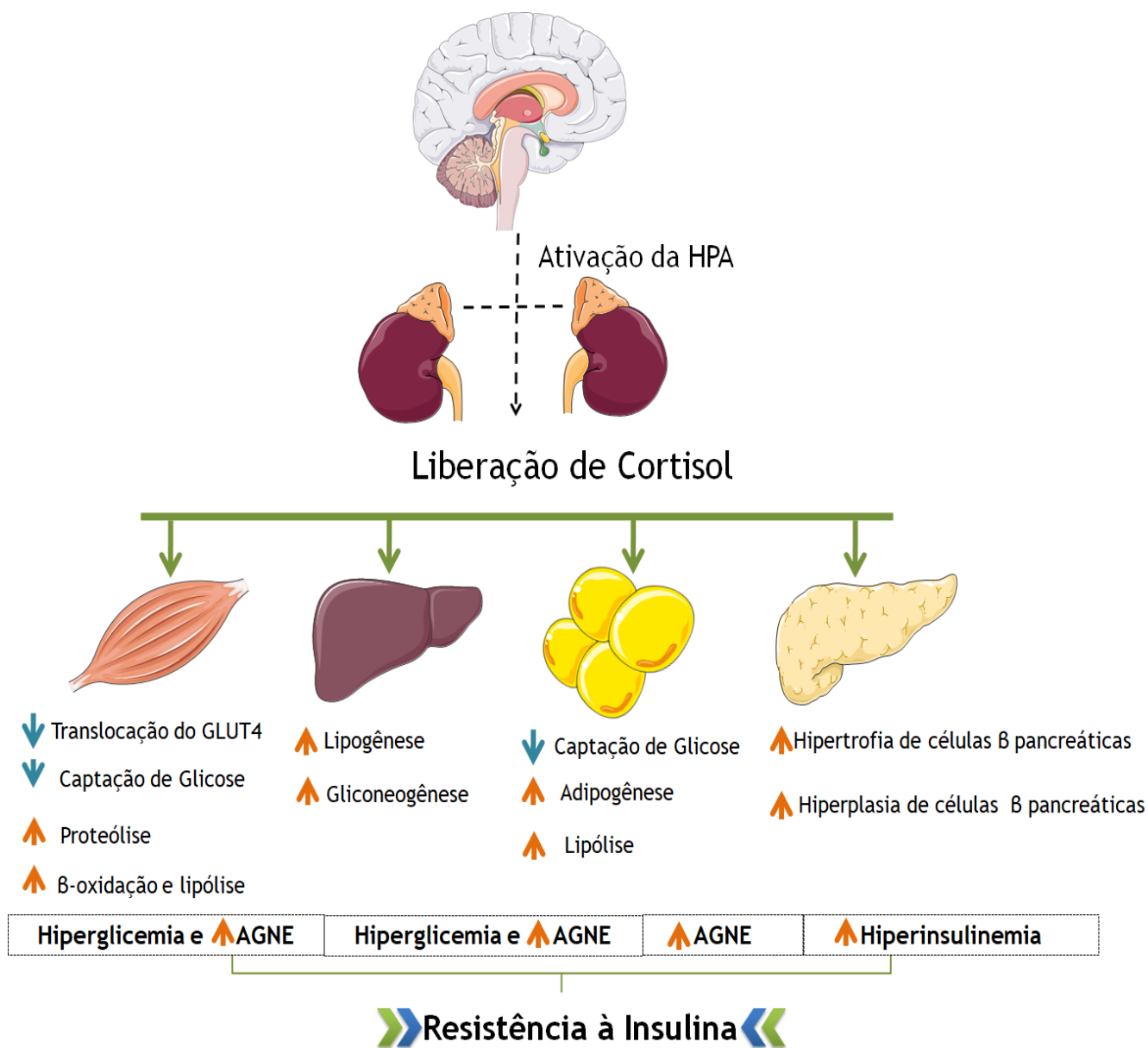
estimular a lipólise por meio de sua ação sobre a enzima lipase hormônio sensível, com liberação resultante de ácidos graxos livres, contribuindo para o desenvolvimento da resistência à insulina (BEAUDRY; RIDELL, 2012; HACKETT; KIVIMÄKI; KUMARI, 2016).

A enzima 11 β desidrogenase 1 (11 β -HSD1), altamente expressa no tecido adiposo, converte a forma inativa, cortisona, na forma ativa, cortisol, ampliando a ação local desse glicocorticoide, independentemente das suas concentrações circulantes (GATHERCOLE et al., 2011; YUAN et al., 2016). No tecido adiposo subcutâneo, o aumento na expressão e atividade da 11 β -HSD1 correlaciona-se positivamente com a obesidade e a resistência à insulina (RASK et al., 2002; SHAO; ZHANG; ZHANG, 2016). Além disso, a inibição da ação da 11 β -HSD1 em pacientes com diabetes tipo 2, por exemplo, têm demonstrado eficácia clínica na melhora da sensibilidade à insulina (ROSENSTOCK et al., 2010).

O cortisol também inibe a translocação do transportador de glicose 4 (GLUT4) para a membrana plasmática, reduzindo a captação de glicose pela célula, com resultante hiperglicemia (MACFARLANE et al., 2014). Além disso, pode reduzir a afinidade do receptor de insulina, e ainda, o número de receptores, o que contribui para a manifestação da resistência à ação desse hormônio (BUREN et al., 2002).

Vale ressaltar que existem diferenças biológicas específicas entre os depósitos de gordura corporal, o que pode influenciar nos efeitos do cortisol sobre a sensibilidade à insulina (HAZLEHURST et al., 2013). Estudo realizado por Lundgren et al. (2004) mostrou que em adipócitos viscerais, mas não subcutâneos, os glicocorticoides reduzem a captação de glicose dependente da insulina, por comprometer a sinalização do hormônio. Por outro lado, a atuação dos glicocorticoides no tecido adiposo subcutâneo é caracterizada por induzir a fosforilação do substrato receptor de insulina, aumentando a sensibilidade à insulina nesse tecido (GATHERCOLE et al., 2007).

Figura 2. Mecanismos envolvidos na participação do cortisol sobre a manifestação da resistência à insulina.



AGNE: ácidos graxos não esterificados; HPA: eixo hipotalâmico-pituitário-adrenal. A hiperresponsividade do HPA presente na obesidade, aumenta a secreção de cortisol pelo córtex adrenal, que desempenha importantes ações na manifestação da resistência à insulina. No músculo esquelético, esse hormônio aumenta a proteólise muscular, a β -oxidação e lipólise e reduz a translocação do GLUT4, com conseqüente prejuízo na captação de glicose. No fígado, aumenta a lipogênese e a gliconeogênese. No tecido adiposo, promove sua expansão e aumento da lipólise. No pâncreas, o cortisol atua induzindo a hipertrofia e hiperplasia das células β -pancreáticas, com conseqüente hiperinsulinemia e disfunção do órgão. Todos esses efeitos contribuem para a redução da sensibilidade à insulina no organismo.

Fonte: Elaborada pela autora.

No músculo esquelético, o cortisol reduz a captação de glicose, por aumentar a ativação de quinases serina, o que resulta na fosforilação e inativação do receptor de insulina (MACFARLANE et al., 2014; MORGAN et al., 2013). O acúmulo de lipídios intramiocelular induzido por esse hormônio, parece contribuir para a manifestação da resistência à insulina. Estudos realizados em cultura de células e modelos animais têm demonstrado que os glicocorticoides desregulam o metabolismo lipídico no músculo esquelético, aumentando a β -oxidação e a lipólise (LIM et al., 2009; MORGAN et al., 2013).

No fígado, o cortisol pode influenciar o metabolismo da glicose por aumentar a expressão de genes codificantes para enzimas gliconeogênicas, como a fosfenolpiruvato carboxiquinase e glicose-6-fosfatase, que catalisam etapas limitantes da gliconeogênese, promovendo aumento nas concentrações plasmáticas de glicose (BATAGLINI et al., 2017; LIM et al., 2009).

Com relação ao papel do cortisol na secreção de insulina, quando em uso de doses agudas, esse hormônio reduz a secreção de insulina pelas células β pancreáticas, pois altera o metabolismo oxidativo da glicose, ativa a repolarização dos canais de K^+ , reduz a ativação das proteínas quinases A e C, induz a geração de espécies reativas de oxigênio e compromete a homeostase do retículo endoplasmático e a eficiência dos íons Ca^{2+} intracelulares na resposta secretória (LINSSEN et al., 2011; RAFACHO et al., 2014.; ROMA et al.; 2011).

Por outro lado, a exposição crônica ao cortisol, como ocorre na obesidade, promove alterações morfológicas importantes nas células β -pancreáticas, como hipertrofia e hiperplasia, que resulta no aumento da síntese e secreção de insulina, com consequente hiperinsulinemia. Associado a isso, essas substâncias também exercem efeito central por promover estimulação vagal, e dessa forma, aumentam a secreção de insulina, contribuindo para a manifestação da resistência à ação desse hormônio na obesidade (GEER et al., 2014; STUBBS; YORK, 1991).

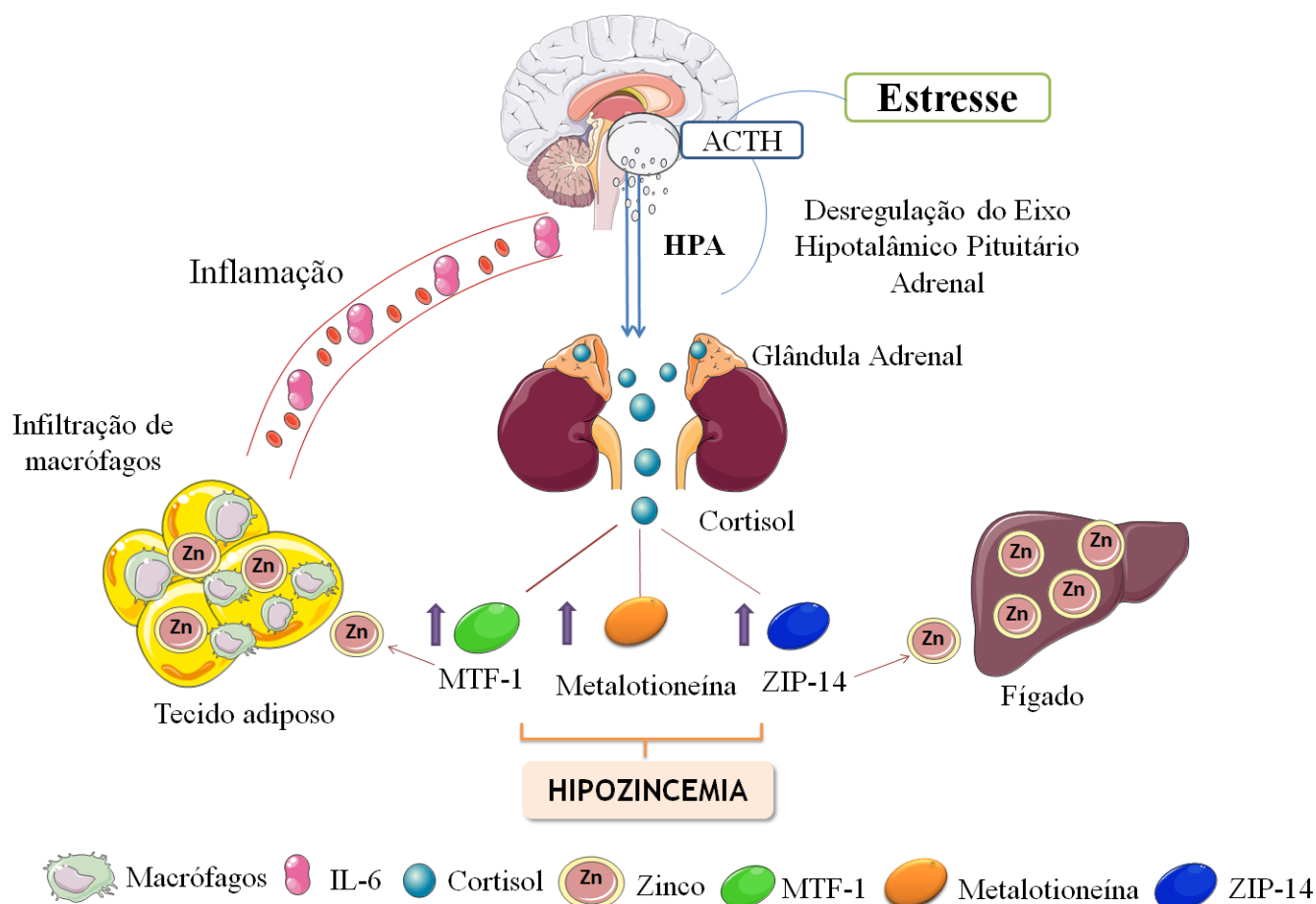
2.3 Ação do Cortisol sobre o Metabolismo do Zinco: Repercussões sobre a Resistência à Insulina.

A literatura tem evidenciado alterações no metabolismo de diversos minerais na obesidade, a exemplo do selênio, magnésio e zinco (GARCÍA et al., 2012; KELISHADI et al., 2010). Estudos têm mostrado concentrações séricas ou

eritrocitárias reduzidas de zinco em indivíduos obesos, que estão associadas à manifestação de diversos desordens metabólicos, como estresse oxidativo, inflamação crônica e resistência à insulina (GARCÍA et al., 2013; KIM; AHN, 2014; SULIBURSKA et al., 2013).

Nessa temática, é importante destacar que o cortisol induz a ativação do fator de transcrição regulamentar de metal 1 (MTF-1) e, dessa forma, aumenta a expressão gênica de metalotioneína e Zip-14, favorecendo a redução das concentrações plasmáticas de zinco (Figura 3) (BURY et al., 2008; TAKEDA et al., 2012; TAKEDA; TAMANO, 2010).

Figura 3. Atuação do Cortisol sobre o Metabolismo do Zinco.



HPA: Eixo hipotalâmico-pituitário-adrenal; IL-6: interleucina 6; ACTH: Hormônio adrenocorticotrófico; MTF-1: do fator de transcrição regulamentar de metal 1; Zn: Zinco. O aumento da inflamação e do estresse promove a hiperresponsividade do HPA, aumentando a secreção de cortisol. Esse glicocorticoide, por sua vez, induz a ativação do MTF-1 e aumento da expressão gênica de metalotioneína e ZIP-14, favorecendo a compartimentalização do zinco no fígado e tecido adiposo, com conseqüente hipozincemia.

Fonte: Elaborada pela autora.

Esses dados são ratificados na literatura ao demonstrar que pacientes com Síndrome de Cushing, caracterizada pelo excesso da produção de cortisol, apresentam redução nas concentrações séricas de zinco, enquanto que indivíduos com insuficiência adrenal, na qual ocorre produção reduzida desse hormônio, é verificado aumento do zinco sérico (BRANDÃO-NETO et al., 1990; TAKEDA; TAMANO, 2010).

Takeda et al. (2012) avaliaram o papel dos glicocorticoides sobre a sinalização do zinco no cérebro e demonstraram que a corticosterona, principal glicocorticoide liberado pelo córtex adrenal de roedores, atua excitando as vesículas sinápticas de neurônios do hipocampo que contém esse mineral, aumentando a sua liberação. Assim, o zinco pode se ligar aos receptores de membrana ou entrar no neurônio pós-sináptico através de canais proteicos ou pela ação de transportadores, acionando cascatas de proteínas quinases que podem induzir a expressão gênica de proteínas transportadoras de zinco, contribuindo para alterações no seu metabolismo.

Nessa perspectiva, é importante ressaltar que alterações na homeostase do zinco induzidas, em particular, pelo cortisol, podem contribuir para a manifestação da resistência à insulina em indivíduos obesos, pois esse mineral, em concentrações adequadas, exerce funções relevantes para secreção e ação da insulina (MARREIRO et al., 2006; RANASINGHE et al., 2015).

Além do cortisol, existem outros fatores que podem explicar a redistribuição do zinco na obesidade, a exemplo da inflamação crônica, que também parecem induzir a expressão da metalotioneína e da proteína transportadora de zinco Zip-14, proteínas que “sequestram” o zinco plasmático nos tecidos hepático e adiposo, favorecendo a manifestação de um quadro de hipozincemia (FEITOSA et al., 2012; LIUZZI et al., 2005).

O zinco desempenha papel fundamental na formação e cristalização da insulina, processo essencial para a atividade desse hormônio. Associado a isso, estimula a fosforilação da subunidade β do receptor de insulina e promove ativação das proteínas fosfatidilisonitol 3 quinase (PI3K) e quinase B (AKT), potencializando o transporte de glicose para o interior das células (CAPDOR et al., 2013; MARREIRO et al., 2006; OYEDEJI et al., 2014; VARDATSIKOS et al., 2013).

O zinco também permite a ativação da proteína AKT por inibir a ação de proteínas, como a fosfatase homóloga à tensina (PTEN), enzima que promove a desfosforilação do fosfatidilinositol 3,4,5-trifostato (PIP3) e inibição da proteína AKT. Dessa forma, esse micronutriente favorece a translocação do GLUT4 e captação da glicose (RUZ et al., 2013; VARDATSIKOS et al., 2013).

O zinco por ser componente estrutural da aminopeptidase responsiva à insulina (IRAP) favorece o transporte da glicose para dentro da célula, pois essa proteína é necessária para manutenção adequada da concentração do GLUT4 em células adiposas e musculares (DEMAEGDT et al., 2012; JANSEN et al., 2009).

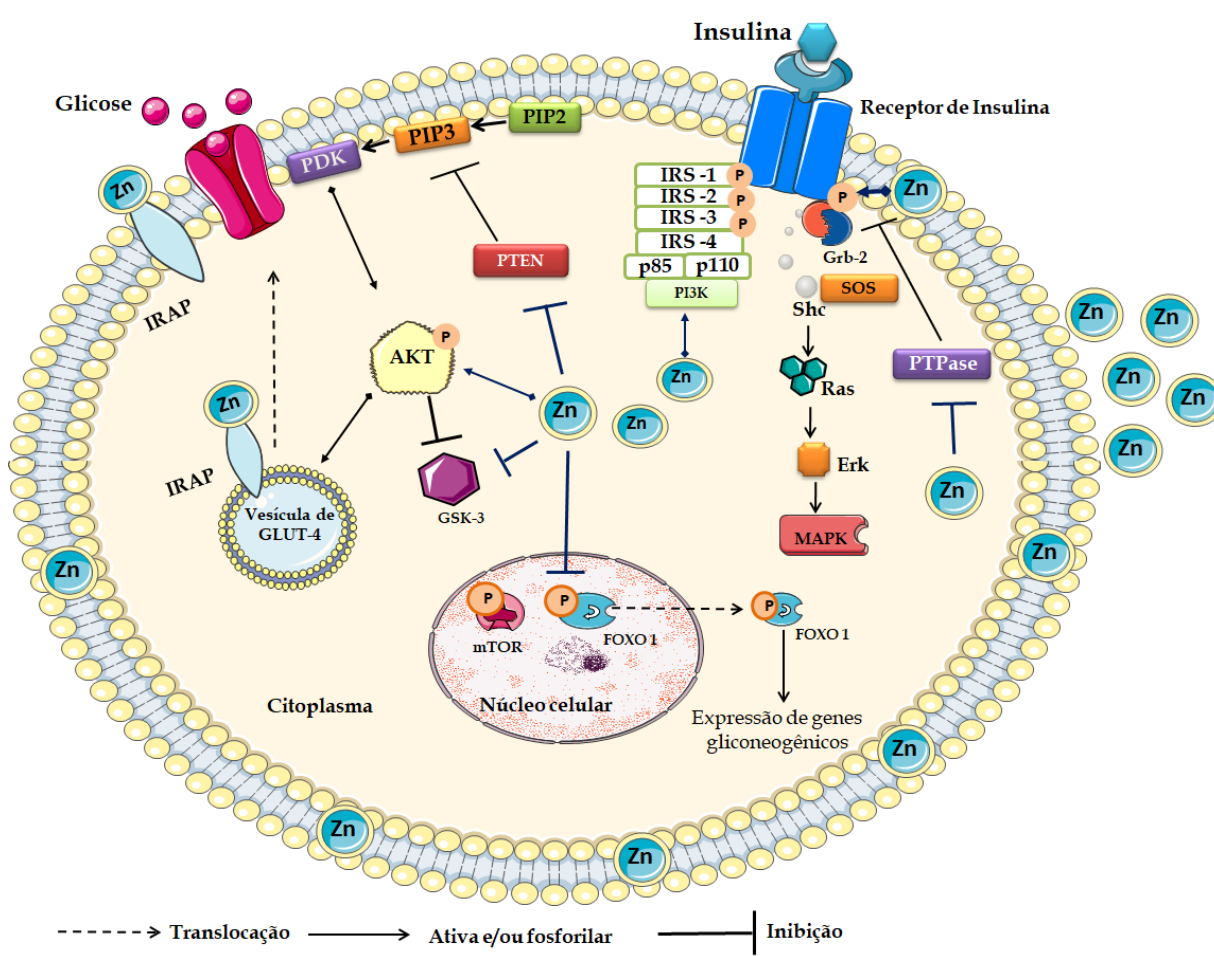
Outra ação relevante do zinco, diz respeito à atuação semelhante desse mineral à insulina, por estimular a fosforilação em resíduo serina a enzima glicogênio sintase quinase 3 (GSK-3), inibindo sua ação, o que por sua vez ativa a glicogênio sintase, enzima envolvida na síntese de glicogênio (VARDATSIKOS et al., 2013). Esse oligoelemento também favorece a fosforilação do fator de transcrição *forkhead box protein O1* (FOXO1), induzindo sua translocação do núcleo para o citoplasma, inibindo a expressão de genes gliconeogênicos. Assim, o zinco inibe a produção de glicose e aumenta a síntese glicogênio, contribuindo para homeostase glicêmica (VARDATSIKOS et al., 2013; WALTER et al., 2006).

O zinco ainda constitui componente estrutural importante da zinco- α 2-glicoproteína (ZAG), adipocina envolvida na mobilização de lipídios, que no músculo, estimula a fosforilação da proteína quinase ativada por AMP (AMPK) e aumenta a proteína GLUT4 na célula (BALAZ et al., 2014).

Dessa forma, alterações nos parâmetros bioquímicos do zinco observadas em indivíduos obesos, contribuem para a manifestação de desordens na síntese, secreção e ação da insulina (Figura 4).

Além disso, o zinco modula a transcrição do gene do receptor de insulina por meio das proteínas *zinc fingers*, que contêm zinco na sua estrutura. Os sítios de ligação dessas proteínas são necessários para ativar a expressão do gene codificante para o receptor de insulina. A *zinc finger* 407, por exemplo, regula a captação da glicose por aumentar os níveis do RNA mensageiro GLUT4 e estimular sua transcrição (BUCHNE et al., 2015).

Figura 4. Participação do zinco em mecanismos envolvidos na via de sinalização da insulina.



AKT: proteína quinase B; FOXO: *forkhead box protein O1*; GSK: glicogênio sintase quinase 3; IRAP: aminopeptidase responsiva à insulina; PDK: fosfatidilinositol quinase dependente; PIP3: fosfatidilinositol 3,4,5-trifostato; PI3K: de fosfatidilinositol 3-quinase; PTEN : fosfatase homóloga à tensina; Zn: zinco. Após a ligação da insulina à subunidade α do receptor de insulina, ocorre transfosforilação da subunidade β , que induz a fosforilação dos membros da família de IRS e subsequente interação com moléculas de sinalização, como a subunidade p85 da PI3K, que por sua vez desencadeia a fosforilação de PDK1, uma quinase serina que ativa AKT, a qual estimula a translocação do GLUT 4 e inibição de GSK. O zinco promove a fosforilação da subunidade β do receptor de insulina e inibe a PTPase, aumentando assim a fosforilação do receptor. A proteína AKT é ativada pelo zinco de uma forma dependente da PI3K. O zinco também desempenha um papel no transporte da glicose, uma vez que é componente estrutural da IRAP.

Fonte: Adaptado de Jansen; Karges; Rink (2009); Vardatsikos; Pandey; Srivastava (2013).

Um ponto importante a ser mencionado, diz respeito à atuação do zinco na função da glândula adrenal. Pesquisas têm demonstrado que tanto o aumento quanto a redução das concentrações sérica de zinco promovem mudanças na

secreção adrenal (ARCHER, 1990; BRANDÃO-NETO, 1990; ROSA et al., 2016). No estudo de Chen et al. (2002), verificou-se que esse mineral inibe a ligação dos glicocorticoides ao seu receptor, pois existe uma região de ligação do zinco no receptor destes hormônios, reduzindo os efeitos do cortisol no organismo.

Por outro lado, tem-se evidenciado que a deficiência de zinco na dieta pode ser fator contribuinte para aumento da secreção de cortisol, pois a redução da concentração sérica desse nutriente eleva a atividade eixo hipotalâmico-pituitário-adrenal, seguido por um aumento da secreção desse glicocorticoide a partir do córtex adrenal (FRAKER et al., 1995; KING et al., 2002; TAKEDA; TAMANO, 2009).

Diante da importância da obesidade como um problema de saúde pública, da presença de desordens metabólicas importantes como a resistência à insulina e da inconsistência sobre os prováveis mecanismos que envolvem os distúrbios do metabolismo de zinco nessa doença, torna-se evidente a necessidade de um melhor entendimento sobre a interação do cortisol com metabolismo do zinco e suas repercussões sobre a resistência à insulina em indivíduos obesos.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Avaliar a associação entre o cortisol, parâmetros do zinco e resistência à insulina em mulheres obesas, bem como avaliar o consumo alimentar e parâmetros do controle glicêmico.

3.2 Objetivos Específicos

- Determinar as concentrações séricas de cortisol;
- Estimar o consumo alimentar de energia, macronutrientes e zinco e sua adequação na dieta;
- Determinar as concentrações de zinco plasmático, eritrocitário e urinário;
- Avaliar parâmetros do controle glicêmico.

4 METODOLOGIA

4.1 Caracterização do Estudo e Protocolo Experimental

Estudo caso-controle envolvendo mulheres na faixa etária entre 20 e 50 anos de idade, que foram distribuídas em: grupo caso (obesas com índice de massa corpórea ≥ 35 kg/m²) e grupo controle (mulheres com índice de massa corpórea entre 18,5 e 24,9 kg/m²). A definição da amostra do estudo foi baseada na amostragem por conveniência, sendo que as participantes obesas foram recrutadas a partir da demanda espontânea de ambulatórios clínicos da cidade de Teresina – PI, e as eutróficas por meio de chamadas públicas, em mídia digital e eventos de educação nutricional, bem como em ambulatórios clínicos.

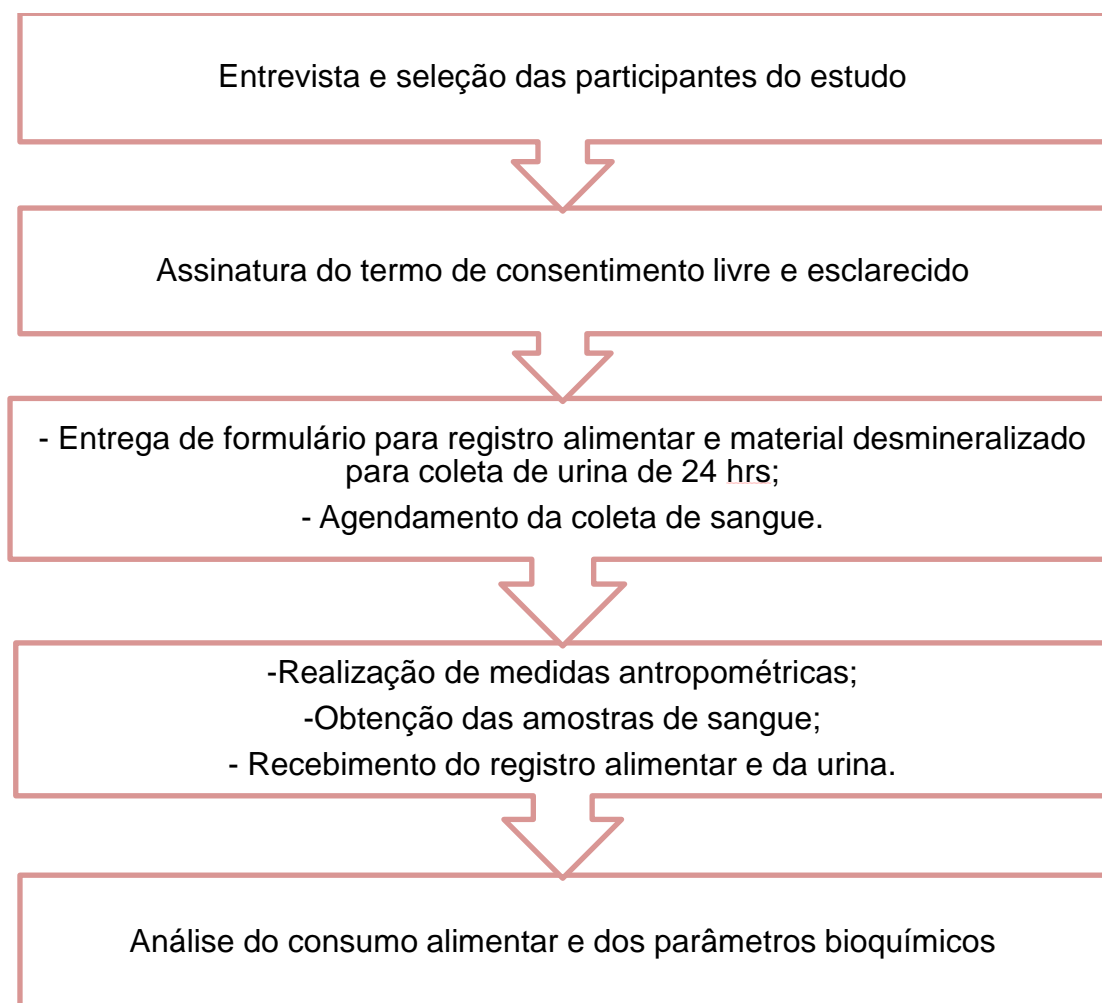
As participantes foram selecionadas por meio de entrevista, de acordo com os seguintes critérios de exclusão: estar gestante ou lactante; estar na pós-menopausa; estar participando de outro estudo clínico; ter diagnóstico de diabetes mellitus, doença renal crônica, câncer e doenças inflamatórias intestinais; estar em tratamento para perda de peso; fazer uso de suplemento vitamínico-mineral e/ou medicamentos que possam interferir no cortisol e no estado nutricional relativo ao zinco, sendo tais informações auto referidas pelas participantes. Após avaliar as medicações em uso, foram excluídas participantes em uso de medicações e/ou suplementos com possível interferência no cortisol e zinco, bem como participantes obesas com índice de massa corpórea entre 30,0 – 34,9 kg/m².

O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal do Piauí, sob número de parecer 2.014.100 (ANEXO A), conforme prevê a Resolução 466/12 do Conselho Nacional de Saúde (CNS) (BRASIL, 2012).

Todas as participantes após receberem informações detalhadas sobre a pesquisa com linguagem adequada, conforme estabelece a Resolução 466/12 do Conselho Nacional de Saúde (BRASIL, 2012), assinaram um termo de consentimento livre e esclarecido do estudo (APÊNDICE A), 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. Logo após foi preenchida uma ficha de cadastro com as informações das participantes (APÊNDICE B).

Em seguida, foram entregues formulário para o registro alimentar (APÊNDICE C) e material para coleta da urina de 24 horas (APÊNDICE D), bem como foram agendadas datas para obtenção das medidas antropométricas (peso corporal, estatura e circunferência da cintura), coleta de sangue e entrega do registro alimentar e urina de 24 horas. As atividades realizadas com as participantes do estudo estão esquematizadas na Figura 5.

Figura 5 - Fluxograma das etapas realizadas com as participantes do estudo.



Fonte: Elaborado pela autora.

4.2 Avaliação Antropométrica

Para a avaliação antropométrica, foi aferido o peso corporal, estatura e circunferência da cintura das participantes, conforme metodologia descrita pelo

Ministério da Saúde (BRASIL, 2004). Os dados antropométricos também foram anotados na ficha de cadastro das participantes da pesquisa (APÊNDICE B).

4.2.1 Peso Corporal (kg) e Estatura (cm)

O peso corporal foi aferido utilizando uma balança digital Plenna[®] modelo SIM09190, com capacidade máxima de 180 Kg, graduada em 100 gramas. A estatura foi mensurada com estadiômetro marca Seca[®], graduado em centímetros e com barra vertical e fixa, para posicionamento sobre a cabeça, estando as participantes descalças, com os pés unidos, em posição ereta, olhando para frente (NOLASCO, 1995).

4.2.2 Índice de Massa Corpórea (IMC)

O índice de massa corpórea foi calculado a partir do peso da participante do estudo dividido por sua estatura elevada ao quadrado (WHO, 2000).

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

A classificação do estado nutricional a partir da distribuição do índice de massa corpórea foi realizada segundo a recomendação da *World Health Organization* (WHO, 2000), apresentada no Quadro 1.

Quadro 1 - Classificação do estado nutricional, segundo o índice de massa corpórea em adultos.

CLASSIFICAÇÃO	IMC (kg/m ²)
Magreza classe III	<16
Magreza classe II	16 - 16,9
Magreza classe I	17 - 18,4
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).

4.2.3 Circunferência da Cintura (cm)

A medida da circunferência da cintura das participantes do estudo foi realizada de acordo com as recomendações da WHO, (2008). O Quadro 2 apresenta os valores limítrofes da circunferência da cintura associados ao desenvolvimento de complicações relacionadas à obesidade.

Quadro 2 - Valores de referência para avaliação de risco cardiovascular utilizando a medida da circunferência da cintura.

Sexo	Risco de Complicações Metabólicas Associadas à Obesidade	
	Elevado	Muito Elevado
Homem	≥ 94 cm	≥ 102 cm
Mulher	≥ 80 cm	≥ 88 cm

Fonte: *World Health Organization* (2008).

4.3 Avaliação do Consumo Alimentar

A avaliação do consumo alimentar foi realizada 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 em que as mesmas forem consumidas.

As quantidades de energia, macronutrientes e zinco foram calculadas pelo programa “*Nutwin*”, versão 1.5 do Departamento de Informática em Saúde da Universidade Federal de São Paulo (ANÇÃO et al., 2002). Os alimentos não encontrados no programa foram incluídos tomando por base a Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (TACO, 2011) e a Tabela de Composição de Alimentos do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 2011).

Os valores da ingestão de energia, macronutrientes e zinco foram inseridos na plataforma *online Multiple Source Method* (MSM), versão 1.0.1, para ajustes de variabilidade intrapessoal e interpessoal, corrigida por técnicas de modelagem estatística, bem como para estimativa do consumo alimentar habitual desses

nutrientes, por meio de análise de regressão logística (HAUBROCK et al., 2011; LAUREANO et al., 2016; MSM, 2011; SOUVEREIN et al., 2011).

A ingestão dietética usual foi estimada em três etapas: na primeira, a probabilidade de ingerir um nutriente em um dia aleatório foi estimada para cada indivíduo; na segunda, foi estimada a quantidade usual de ingestão do nutriente em um dia de consumo; em seguida, os números resultantes das etapas 1 e 2 foram multiplicados para estimar a ingestão diária usual para cada indivíduo (MSM, 2011).

Os valores dietéticos de macronutrientes e zinco 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 nutriente (FISBERG et al., 2005; JAIME et al., 2003; WILLETT; STAMPFER, 1986). O cálculo possui quatro etapas:

Inicialmente, foi realizada 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 possível determinar a quantidade estimada de nutriente (Y_e) que o indivíduo deveria consumir com a sua média 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) para cada indivíduo e a ingestão estimada.

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

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; Howe; Kushi (1997) propõem que a constante seja o consumo do nutriente estimado 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 lipídio. Para verificar a adequação da ingestão alimentar de zinco, foi utilizada como referência a *Estimated Average Requirement* (EAR), contida nas *Dietary Reference Intakes* (DRI's), sendo 6,8 mg/dia para as mulheres na faixa etária entre 19 e 50 anos (INSTITUTE OF MEDICINE, 2001, 2005).

4.4 Coleta do Material Biológico

4.4.1 Coleta de sangue

Amostras de 12 mL de sangue venoso foram coletadas no período da manhã, entre 7 e 9 horas, estando as participantes em jejum mínimo de 12 horas, as quais foram distribuídas em tubo distintos: (1) tubo a vácuo contendo citrato para análise do zinco e hemoglobina, (2) tubo a vácuo contendo ácido etileno diaminotetracético (EDTA) para determinação hemoglobina glicada, (3) tubo *vacuette*® (São Paulo, Brasil) sem anticoagulante para a determinação de glicose, insulina e cortisol séricos.

4.4.1 Coleta da urina de 24 horas

Para a coleta de urina de 24h, foram fornecidos recipientes desmineralizados que foram pesados antes e após a coleta em balança semianalítica para a determinação do volume urinário a partir da densidade.

4.5 Preparo da Amostra para Determinação dos Parâmetros Bioquímicos

4.5.1 Controle de 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 da imersão em solução de ácido nítrico a 10%, durante um período mínimo de 12 horas. Posteriormente, foram enxaguados em água deionizada, no mínimo 10 vezes, secos em estufa e mantidos em depósitos fechado previamente desmineralizados, até o momento da utilização (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 1985).

Todos os reagentes utilizados foram de grau de pureza analítica (P.A). Todas as soluções aquosas e as diluições foram preparadas com água ultrapura, obtida por meio de um sistema Milli-Q (Millipore®, Estados Unidos).

4.5.2 Separação dos Componentes do Sangue e Urina

Para análise do zinco plasmático, o plasma foi separado do sangue total por centrifugação (CIENTEC® 4K15, São Paulo, Brasil) a 1831xg durante 15 minutos a 4 °C. Em seguida, o plasma foi extraído com pipeta automática e acondicionado em microtubos de polipropileno, sendo posteriormente conservados a -20 °C.

Para separação dos eritrócitos e subsequente determinação do zinco, foram utilizados os métodos propostos por Whitehouse et al. (1982). A massa eritrocitária foi lavada 3 vezes com 5 mL de solução salina isotônica (NaCl a 0,9%), sendo cuidadosamente homogeneizada por inversão e centrifugada (CIENTEC® 4K15, São Paulo, Brasil) a 2493xg por 10 minutos e o sobrenadante aspirado e descartado. Após a última centrifugação, a solução salina foi descartada e a massa eritrocitária extraída cuidadosamente com o auxílio de uma pipeta automática e transferida para microtubos, que foram mantidos à temperatura de -20°C para análise posterior.

Em relação à separação das amostras de urina, após o recebimento do recipiente disponibilizado para a coleta, foi realizado o cálculo do volume urinário, obtido considerando-se a densidade (1,015 g/mL) e a massa da urina (diferença

entre o peso do frasco antes e após a coleta da urina de 24 horas, aferido em balança semianalítica), conforme fórmula abaixo:

$$Densidade \left(\frac{g}{mL}\right) = \frac{Massa (g)}{Volume (mL)}$$

Após esse procedimento, foram retirados 20 mL de urina, o quais foram distribuídos em microtubos de polipropileno, e conservados em *freezer* a -20°C para análise posterior de zinco.

4.6 Determinação do Cortisol Sérico

A avaliação da concentração de cortisol sérico foi realizada segundo o método de eletroquimioluminescência, sendo adotado como padrão de referência valores entre 6,23 – 18,01 µg/dL no turno da manhã (NIEMAN et al., 2008).

4.7 Determinação do Zinco no Plasma, Eritrócito e Urina

As análises de zinco plasmático, eritrocitário e urinário foram realizadas no Laboratório de Espectrometria de Emissão Atômica - Embrapa (Centro Nacional de Pesquisa de Milho e Sorgo), localizado em Sete Lagoas – Minas Gerais. A análise elementar do mineral foi realizada em um espectrômetro de plasma indutivamente acoplado - Espectrometria de Emissão Óptica com uma configuração de vista axial e um nebulizador V-Groove (720 ICP/OES, Varian Inc., Califórnia, Estados Unidos). Os limites de detecção foram medidos a partir da equação $3 \times SD$ de 10 medições do branco, dividido pela declividade da curva de calibração. Soluções estoque monoelementais de zinco 1000 mg.L⁻¹ (Titrisol e Certipur - Merck, Germany) foram utilizados na preparação de soluções de referência para a curva de calibração e otimização das condições analíticas. Todas as soluções aquosas e as diluições foram preparadas com água ultrapura (18 MΩ.cm⁻¹), obtida por meio de um sistema Milli-Q (Millipore, Bedford, MA).

As amostras de plasma foram diluídas em 1:50, 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. A massa eritrocitária foi diluída 1:100 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, para

auxiliar na dissolução dos elementos traço nas amostras. Duas linhas de emissão para cada elemento foram testadas antes da seleção.

O zinco foi lido em 280,271 nm (linha iônica). A escolha da linha espectral de análise foi baseada tanto na sua sensibilidade quanto na interferência espectral. As amostras foram medidas em triplicata. Amostras de material de referência certificado, Seronorm TM Oligoelement Serum L-1 e L-2 (Billingstad, Noruega), foram determinadas para validar as medições analíticas em ICP-OES.

Para realização da leitura das amostras, o aparelho foi configurado nas seguintes condições: 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 curvas de calibração foram preparadas nas seguintes concentrações para os analitos testados: 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.

Os valores de referência adotados foram de 75 a 110 µg/dL (GIBSON, 2005), para o zinco plasmático, 40 a 44 µg/gHb (GUTHRIE; PICCIANO, 1994), para o zinco eritrocitário e 300-600 µg/24 horas (GIBSON, 2005) para o zinco urinário.

4.7.1 Determinação da hemoglobina

A concentração de hemoglobina na massa eritrocitária foi determinada conforme o método da cianometahemoglobina para expressar as concentrações de zinco eritrocitário (VAN ASSENDELFT, 1972). Esse método se baseia na reação de oxidação do Fe⁺² do grupo heme da hemoglobina pelo ferricianeto, e posterior reação com o cianeto de potássio para formar cianeto de hemoglobina.

Inicialmente, em um microtubo contendo 300 µL de massa eritrocitária foi adicionado 900 µL de água ultrapura, perfazendo um lisado com proporção 1:4. Em seguida, a uma alíquota de 20 µL desse lisado foi acrescentado 5 mL de solução de Drabkin (Labtest®, Brasil). A leitura da absorbância foi realizada em espectrofotômetro UV visível (Bel Photonics®, SP1102, Brasil) considerando o comprimento de onda de 540 nm. A determinação da hemoglobina foi realizada no Laboratório de Espectrometria de Emissão Atômica - Embrapa (Centro

Nacional de Pesquisa de Milho e Sorgo), localizado em Sete Lagoas – Minas Gerais.

4.8 Determinação do Controle Glicêmico

4.8.1 Concentração Sérica de Glicose de Jejum

A análise da glicose de jejum foi realizada por meio do método enzimático colorimétrico. Os valores entre 75 e 99 mg/dL foram considerados normais, segundo os critérios definidos pela *American Diabetes Association* (ADA, 2017).

4.8.2 Concentração Sérica de Insulina de Jejum

A avaliação da concentração sérica de insulina foi determinada segundo o método de quimioluminescência, considerando como padrão de referência os valores entre 6 e 27 $\mu\text{U/mL}$ (ADA, 2017).

4.8.3 Hemoglobina glicada

A análise da hemoglobina glicada foi realizada por meio do método de cromatografia de troca iônica. Os valores entre 5,7 e 6,4% indicam risco elevado para o desenvolvimento do diabetes (ADA, 2017).

4.9 Caracterização da Resistência à Insulina

4.9.1 Cálculo do índice HOMA-IR

Os valores de *Homeostasis Model Assessment Insulin Resistance* (HOMA-IR) determinam a eficácia dos níveis de insulina de jejum em equilíbrio para regular a glicose sanguínea. Valores acima de 2,71 indicam um quadro de resistência à insulina (ADA, 2017; MATTHEWS et al., 1985).

$$\text{Resistência à Insulina} = \frac{\text{insulina } (\mu\text{U/mL}) \times \text{glicose } (\text{nmol/L})}{22,5}$$

4.9.2 Cálculo do índice de HOMA2-IR

O modelo do HOMA-IR foi atualizado com alguns ajustes fisiológicos para uma versão de computador (HOMA2-IR) fornecendo um índice mais preciso. Tal índice foi calculado por meio do programa *HOMA Calculator* versão 2.2.2. (*HOMA Calculator*, 2017).

4.10 Análise Estatística

Os dados foram organizados em planilhas do Excel[®], para realização de análise descritiva das variáveis observadas nos grupos estudados. Posteriormente, os dados foram exportados para o programa SPSS (for Windows[®] versão 22.0) 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. Para o estudo de correlações, considerando a distribuição normal dos dados, foi utilizado o coeficiente de correlação linear de *Pearson*.

Foi realizado teste para comparação das médias das variáveis zinco plasmático, eritrocitário e urinário, entre os três grupos distribuídos de acordo com o IMC: grupo experimental I (obesas com índice de massa corpórea entre 35 e 39,9 kg/m²), grupo experimental II (obesas com índice de massa corpórea ≥40 kg/m²) e grupo controle (mulheres eutróficas com índice de massa corpórea entre 18,5 e 24,9 kg/m²). Para tanto, foi utilizada a Análise de Variância (ANOVA), considerando a distribuição paramétrica dos dados. Para estudo das associações, teste Qui-quadrado de Independência, teste de *Fisher* e Coeficientes *Phi* e de *Cramer* foram utilizados.

Para avaliar a influência das variáveis cortisol sérico, zinco plasmático, eritrocitário e urinário sobre os parâmetros glicêmicos, foi realizada análise de regressão linear múltipla. Para tanto, foram utilizados três modelos estatísticos. O primeiro refere-se à avaliação da influência das variáveis zinco plasmático e cortisol sérico sobre cada parâmetro do controle glicêmico avaliado. O segundo, por sua vez, envolveu as variáveis zinco eritrocitário e cortisol sérico e o terceiro,

zinco urinário e cortisol sérico. Para todos os testes realizados, a diferença foi considerada estatisticamente significativa quando o valor de $p < 0,05$, adotando-se um intervalo de confiança de 95%.

5 RESULTADOS

Nesse estudo foram incluídas 87 mulheres na faixa etária entre 20 e 50 anos, que foram distribuídas em: grupo caso (45 mulheres obesas) e grupo controle (42 mulheres eutróficas).

5.1 Parâmetros antropométricos de avaliação do estado nutricional

Os valores médios e desvios-padrão da idade e dos parâmetros antropométricos utilizados na avaliação do estado nutricional das participantes deste estudo estão apresentados na Tabela 1. Observou-se que houve diferença estatística para todos os parâmetros antropométricos ($p < 0,05$).

Tabela 1 - Valores médios e desvios-padrão da idade, peso corporal, estatura, índice de massa corpórea e circunferência da cintura do grupo controle e participantes obesas. Teresina-PI, Brasil, 2018.

Parâmetros	Controle	Obesas	p
	(n=45) Média ± DP	(n=42) Média ± DP	
Idade (anos)	34,9 ± 7,9	32,2 ± 8,3	0,255
Peso corporal (kg)	55,9 ± 5,9	107,8 ± 14,5*	<0,001
Estatura (m)	1,6 ± 0,1	1,6 ± 0,1*	0,010
IMC (kg/m ²)	22,6 ± 1,7	41,6 ± 5,6*	<0,001
CC (cm)	74,4 ± 5,0	115,1 ± 12,1*	<0,001

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

5.2 Consumo alimentar

Os valores médios e desvios-padrão da ingestão de energia, macronutrientes e zinco encontrados nas dietas consumidas pelas participantes do estudo estão descritos na Tabela 2. Verificou-se que não houve diferença estatística significativa entre os grupos em relação à ingestão de energia, carboidratos, proteínas, lipídios e zinco. Conforme os dados da tabela, pode-se

verificar uma redução expressiva no número de participantes nessa análise. Tal resultado se deve ao fato da exclusão de participantes por não aderência ao preenchimento do registro alimentar.

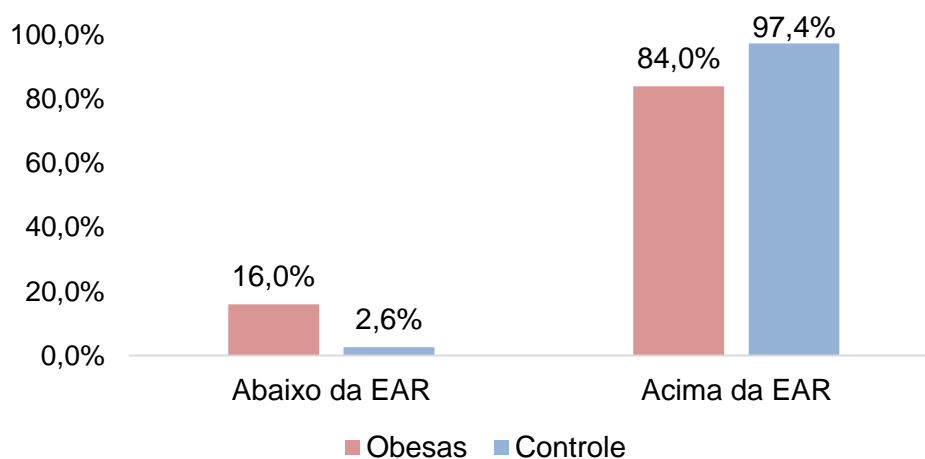
Tabela 2 - Valores médios e desvios-padrão da ingestão de energia, macronutrientes e zinco do grupo controle e participantes obesas. Teresina-PI, Brasil, 2018.

Parâmetros	Controle	Obesas	p
	(n=39)	(n=25)	
	Média ± DP	Média ± DP	
Energia (Kcal/dia)	1707,1 ± 357,2	1591,1 ± 489,6	0,278
Carboidratos (%)	51,7 ± 6,4	50,2 ± 9,9	0,494
Proteínas (%)	28,8 ± 4,2	29,2 ± 5,1	0,398
Lipídios (%)	19,5 ± 3,3	20,5 ± 5,9	0,724
Zinco dietético (mg/dia)	11,6 ± 2,1	10,6 ± 4,1	0,284

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; EAR = 6,8 mg zinco/dia, faixa etária entre 19 e 50 anos (sexo feminino) (IOM, 2006, 2001).

Na Figura 6 está apresentada a distribuição percentual das participantes obesas e grupo controle segundo os valores de referência de ingestão dietética de zinco.

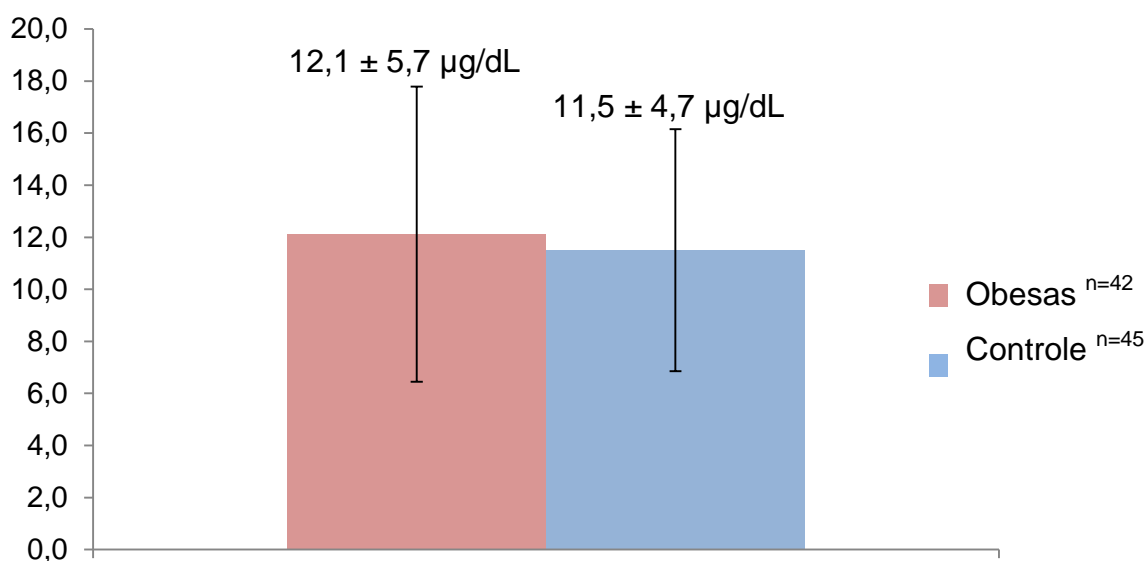
Figura 6 - Distribuição percentual das participantes obesas e grupo controle, segundo os valores de referência de ingestão dietética de zinco. Teresina-PI, Brasil, 2018.



5.3 Parâmetros Bioquímicos de Avaliação do Cortisol e Zinco

Na Figura 7 encontram-se as concentrações séricas de cortisol das participantes obesas e grupo controle. Verificou-se que não houve diferença estatística significativa entre os grupos, em relação a esse parâmetro bioquímico ($p=0,576$).

Figura 7 - Valores médios e desvios-padrão das concentrações séricas de cortisol ($\mu\text{g/dL}$) das participantes obesas e grupo controle. Teresina-PI, Brasil, 2018.



Teste *t* de Student ($p=0,576$). Valor de referência para coleta entre 6h -10h: 6,23 a 18,01 $\mu\text{g/dL}$.

Na Tabela 3, encontram-se as concentrações de zinco no plasma, eritrócitos e urina do grupo controle e participantes obesas. Verificou-se que houve diferença estatística significativa entre os grupos, em relação às concentrações plasmáticas, eritrocitárias e urinárias de zinco ($p<0,05$).

Tabela 3 - Valores médios e desvios-padrão das concentrações plasmáticas, eritrocitárias e urinárias de zinco do grupo controle e participantes obesas. Teresina-PI, Brasil, 2018.

Parâmetros	Controle	Obesas	p
	(n=45) Média ± DP	(n=42) Média ± DP	
Zinco plasmático (µg/dL)	89,5 ± 12,4	67,3 ± 6,4*	<0,001
Zinco eritrocitário (µgZn/gHb)	42,7 ± 3,6	37,2 ± 3,7*	<0,001
Zinco urinário [#] (µg/24 h)	208,9 ± 94,9	293,4 ± 108,8*	<0,001

*Valores significativamente diferentes entre as pacientes obesas e grupo controle, teste *t* de Student ($p < 0,05$). Valores de referência: Zinco eritrocitário= 40 a 44 µg/gHb (GUTHRIE; PICCIANO, 1994); Zinco plasmático= 75-110 µg/dL; Zinco urinário = 300-600 µg/24 horas (GIBSON, 2005). [#]Zinco urinário: controle, n= 43; obesas, n= 28.

Na Tabela 4 estão apresentados os valores médios e desvios-padrão das concentrações plasmáticas, eritrocitárias e urinárias de zinco das participantes do estudo por faixa de IMC. Observou-se que houve diferença estatística entre os grupos eutrófico e obesas grau II e III, em relação às concentrações plasmáticas e eritrocitárias de zinco. Entretanto, ressalta-se que não houve diferença estatística significativa entre as mulheres com obesidade grau II e III. Quanto aos valores de zinco urinário, verificou-se que houve diferença apenas entre os grupos controle e obesas grau II.

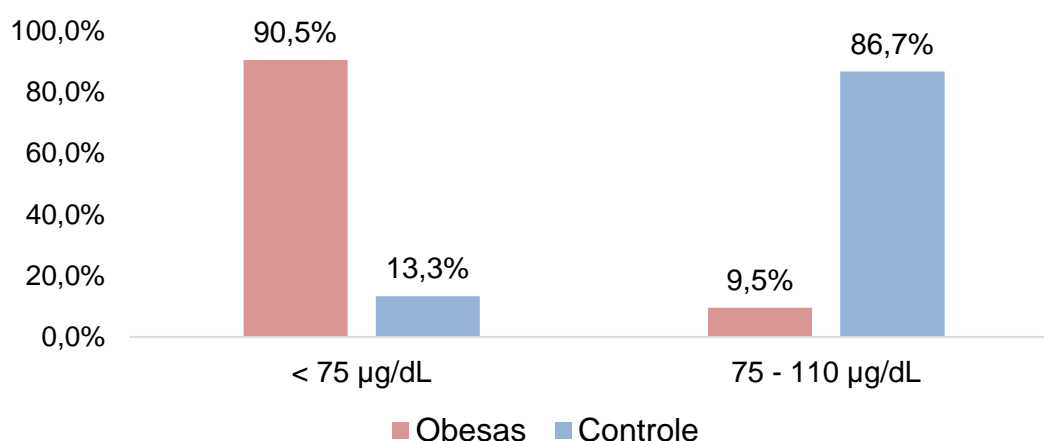
Tabela 4 - Distribuição das concentrações plasmáticas, eritrocitárias e urinárias de zinco das participantes do estudo por faixa de IMC. Teresina-PI, Brasil, 2018.

Parâmetros	Eutrofia	Obesas Grau II	Obesas Grau III	p
	(n=45)	(n=20)	(n=22)	
	Média ± DP	Média ± DP	Média ± DP	
Zn plasmático (µg/dL)	89,5 ± 12,4 ^a	68,5 ± 6,0 ^b	66,3 ± 6,7 ^b	<0,001
Zn eritrocitário (µgZn/gHb)	42,7 ± 3,6 ^a	37,0 ± 3,8 ^b	37,4 ± 3,7 ^b	<0,001
Zn urinário [#] (µg/24 h)	208,9 ± 94,9 ^a	314,3 ± 122,6 ^b	272,6 ± 92,9 ^{a,b}	0,002

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). [#]Zinco urinário: obesas grau II, n=14; obesas grau III, n=14; controle, n=43.

A Figura 8 traz a distribuição percentual das participantes obesas e grupo controle, segundo os valores de referência de zinco plasmático. Verificou-se associação entre a presença de obesidade e as concentrações reduzidas do mineral no plasma ($p < 0,001$).

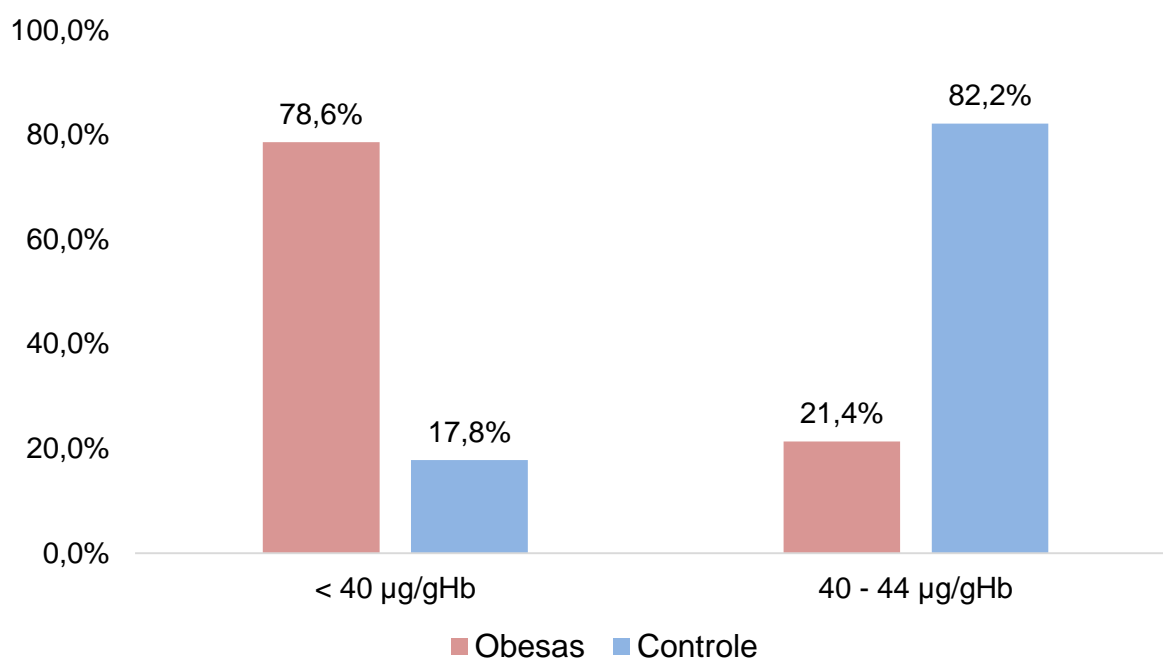
Figura 8 – Distribuição percentual das participantes obesas e grupo controle, segundo os valores de referência de zinco plasmático. Teresina-PI, Brasil, 2018.



Teste Qui-quadrado ($p < 0,001$). Coeficiente *Phi* (77,1%).

A Figura 9 traz a distribuição percentual das participantes obesas e grupo controle, segundo os valores de referência de zinco eritrocitário. Verificou-se associação entre a presença de obesidade e as concentrações reduzidas de zinco eritrocitário ($p < 0,001$).

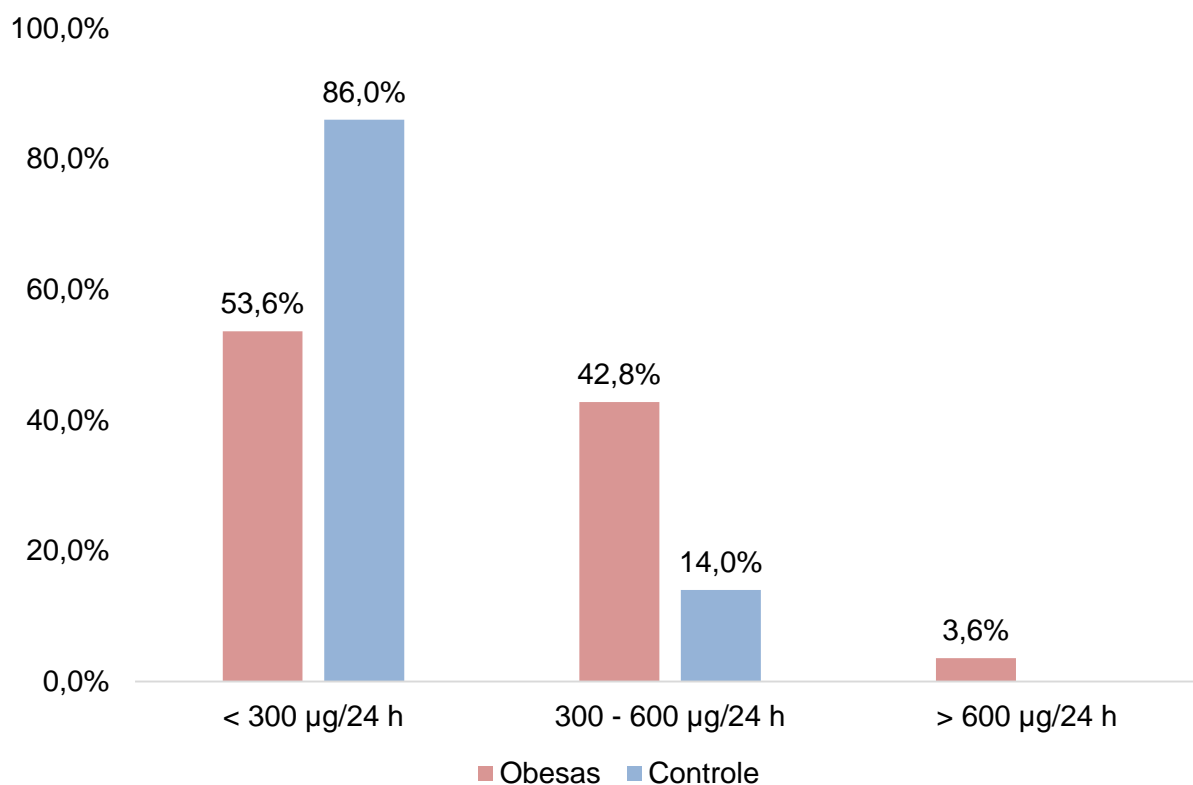
Figura 9 – Distribuição percentual das participantes obesas e grupo controle, segundo os valores de referência de zinco eritrocitário. Teresina-PI, Brasil, 2018.



Teste Qui-quadrado ($p < 0,001$). Coeficiente *Phi* (60,9%).

A Figura 10 traz a distribuição percentual das participantes obesas e grupo controle, segundo os valores de referência de zinco urinário. Verificou-se associação entre a presença de obesidade e as concentrações reduzidas de zinco urinário ($p = 0,008$).

Figura 10 – Distribuição percentual das participantes obesas e grupo controle, segundo os valores de referência de zinco urinário. Teresina-PI, Brasil, 2018.



Teste Qui-quadrado ($p=0,008$). Coeficiente de Cramer (36,7%).

5.4 Controle Glicêmico

Os valores médios e desvios-padrão dos parâmetros do controle glicêmico do grupo controle e participantes obesas estão na Tabela 5. Foi encontrada diferença estatística significativa em relação à hemoglobina glicada ($p=0,022$).

Tabela 5 - Valores médios e desvios-padrão dos parâmetros do controle glicêmico do grupo controle e participantes obesas. Teresina-PI, Brasil, 2018.

Parâmetros	Controle	Obesas	p
	(n=45) Média ± DP	(n=42) Média ± DP	
Glicose (mg/dL)	80,7 ± 8,3	84,7 ± 12,9	0,089
Insulina (µU/mL)	10,0 ± 2,5	10,7 ± 3,6	0,312
HbA1 (%)	5,0 ± 0,5	5,2 ± 0,5*	0,022
HOMA-IR	2,0 ± 0,6	2,2 ± 1,0	0,133
HOMA2-IR	1,3 ± 0,3	1,3 ± 0,5	0,227

*Valores significativamente diferentes entre as pacientes obesas e grupo controle, teste *t* de Student ($p < 0,05$). HbA1 = hemoglobina glicada; HOMA-IR = *Homeostasis Model Assessment Insulin Resistance*; HOMA2-IR = *Homeostasis Model Assessment*. Valores de referências: Glicose de Jejum = 75 a 99 mg/dL; Insulina sérica = 6 a 27 µU/mL; HbA1 < 5,7; HOMA-IR > 2,71; HOMA2-IR > 1,8.

A Tabela 6 traz os dados significativos da análise de correlação linear simples entre o IMC, glicose de jejum, hemoglobina glicada e HOMA-IR, entre peso, hemoglobina glicada e HOMA-IR, bem como houve correlação entre a circunferência da cintura, glicose de jejum e hemoglobina glicada.

Tabela 6 – Análise de correlação linear simples entre os parâmetros antropométricos e controle glicêmico das participantes do estudo. Teresina-PI, Brasil, 2018.

Parâmetros	IMC		Peso		CC	
	r	p	r	p	r	p
Glicose	0,231	0,031*	0,207	0,054	0,207	0,020*
Insulina	0,168	0,120	0,167	0,122	0,138	0,203
HbA1	0,275	0,010*	0,248	0,021*	0,246	0,022*
HOMA-IR	0,220	0,041*	0,211	0,050*	0,206	0,055
HOMA2-IR	0,170	0,083	0,184	0,090	0,164	0,130

*Correlação Linear de Pearson ($p < 0,05$). IMC= índice de massa corpórea; CC= circunferência da cintura; HbA1 = hemoglobina glicada; HOMA-IR = *Homeostasis Model Assessment Insulin Resistance*; HOMA 2= *Homeostasis Model Assessment*; Glicose (mg/dL); Insulina (µU/mL).

5.5 Correlação entre Parâmetros Relativos ao Cortisol, Zinco e Controle Glicêmico

A Tabela 7 mostra os resultados da análise de correlação entre os parâmetros do zinco, cortisol e marcadores do controle glicêmico das participantes obesas. Verificou-se que não houve correlação significativa entre esses parâmetros ($p > 0,05$).

Tabela 7 – Análise de correlação linear simples entre os parâmetros do zinco, cortisol e controle glicêmico nas pacientes obesas. Teresina-PI, Brasil, 2018.

Parâmetros	Zinco		Zinco		Zinco		Zinco	
	Dietético		Plasmático		Eritrocitário		Urinário	
	r	p	r	p	r	p	r	p
Cortisol	-0,035	0,969	0,105	0,509	0,058	0,713	0,092	0,641
Glicose	0,077	0,713	-0,151	0,341	0,001	0,998	-0,123	0,534
Insulina	0,156	0,455	-0,131	0,409	-0,014	0,931	0,136	0,490
HbA1	-0,004	0,984	-0,229	0,145	-0,023	0,887	0,095	0,630
HOMA-IR	0,162	0,440	-0,173	0,272	-0,033	0,837	0,074	0,709
HOMA2-IR	0,159	0,448	-0,152	0,341	-0,020	0,900	0,112	0,570

HbA1 = hemoglobina glicada; HOMA-IR = *Homeostasis Model Assessment Insulin Resistance*; HOMA2-IR = *Homeostasis Model Assessment*; Zinco plasmático (ug/dL); Zinco eritrocitário ($\mu\text{g/gHb}$); Zinco urinário ($\mu\text{g}/24$ horas); Glicose (mg/dL); Insulina ($\mu\text{U/mL}$).

A Tabela 8 traz os resultados da análise de correlação entre os parâmetros do zinco, cortisol e marcadores do controle glicêmico do grupo controle. Verificou-se que houve correlação positiva significativa entre a concentração plasmática de zinco e glicose de jejum ($p < 0,05$).

Tabela 8 – Análise de correlação linear simples entre os parâmetros do zinco, cortisol e controle glicêmico no grupo controle. Teresina-PI, Brasil, 2018.

Parâmetros	Zinco		Zinco		Zinco		Zinco	
	Dietético		Plasmático		Eritrocitário		Urinário	
	r	p	r	p	r	p	r	p
Cortisol	0,115	0,486	0,021	0,889	0,137	0,369	-0,171	0,273
Glicose	0,030	0,857	0,425	0,004*	-0,136	0,372	-0,051	0,744
Insulina	0,047	0,778	-0,035	0,822	0,156	0,307	-0,109	0,485
HbA1	-0,020	0,903	0,029	0,848	0,030	0,844	-0,067	0,669
HOMA-IR	0,029	0,863	0,117	0,445	0,091	0,552	-0,091	0,561
HOMA2-IR	0,042	0,801	0,017	0,914	0,136	0,373	-0,109	0,485

*Correlação Linear de Pearson ($p < 0,05$). HbA1 = hemoglobina glicada; HOMA-IR = *Homeostasis Model Assessment Insulin Resistance*; HOMA 2= *Homeostasis Model Assessment*; Zinco plasmático (ug/dL); Zinco eritrocitário ($\mu\text{g/gHb}$); Zinco urinário ($\mu\text{g}/24$ horas); Glicose (mg/dL); Insulina ($\mu\text{U/mL}$).

A análise de correlação entre o cortisol sérico e os parâmetros do controle glicêmico de ambos os grupos não evidenciou resultado estatisticamente significativo ($p > 0,05$).

Sobre aos dados da análise de regressão linear múltipla, verificou-se que as variáveis zinco plasmático, eritrocitário, urinário e cortisol sérico não foram previsoras dos parâmetros glicêmicos em ambos os grupos.

6 DISCUSSÃO

Neste estudo foi avaliada a associação entre o cortisol sérico, biomarcadores do zinco e a resistência à insulina em mulheres obesas. Sobre as análises do cortisol, as concentrações séricas desse hormônio das participantes obesas encontravam-se adequadas em relação aos valores de normalidade, não sendo observada diferença estatística significativa, quando comparadas ao grupo controle. Estes resultados corroboram os achados de Martins et al. (2014) e Rask et al. (2001) que também avaliaram essas variáveis.

Existem alguns fatores que podem contribuir para manter as concentrações séricas de cortisol adequadas nas mulheres obesas desse estudo. Uma das prováveis explicações é o fato de que o aumento nos valores séricos desse hormônio é capaz de inibir a secreção do hormônio liberador de corticotropina (CRH) e da adrenocorticotropina (ACTH), substâncias indutoras da secreção de cortisol (GATHERCOLE et al., 2011). Esse mecanismo de *feedback* negativo favorece a manutenção das concentrações séricas desse glicocorticoide em valores dentro da faixa de normalidade.

É oportuno chamar a atenção que embora não tenha sido verificado hipercortisolemia nas participantes obesas desse estudo, pode-se pressupor que ocorre conversão desse hormônio para a sua forma biologicamente ativa em seus tecidos alvos, o que permite a sua expressiva atuação mesmo sob concentrações adequadas no sangue (SVENDSEN, 2009), conforme os resultados deste estudo.

Quanto aos parâmetros de avaliação do zinco, em relação à ingestão dietética desse mineral, pôde-se verificar que as dietas consumidas pelas pacientes obesas tiveram valores de zinco superiores às recomendações. Estes resultados estão de acordo com aqueles encontrados por Cominetti; Garrido-Júnior; Cozzolino (2006), Ferro et al. (2011) e Martins et al. (2014), que encontraram dados semelhantes.

A ingestão de zinco acima dos valores de referência pelas participantes dessa pesquisa pode ser justificada pelo hábito alimentar da população, caracterizado pelo consumo de alimentos ricos em proteínas, principalmente carne vermelha e outros alimentos de origem animal, que são fontes alimentares desse mineral (GIBSON, 2012; BRASIL, 2011).

Nesse sentido, é oportuno mencionar a análise de correlação realizada entre a ingestão dietética de proteínas e de zinco, sendo verificada correlação positiva forte entre essas variáveis em ambos os grupos (dados não apresentados nos resultados). Esse resultado ratifica o fato de que o maior consumo de alimentos fontes de proteínas está associado a quantidades elevadas de zinco na dieta.

Sobre as concentrações de zinco no plasma, pôde-se observar que as mulheres obesas apresentaram valores inferiores à faixa de normalidade, com diferença estatística significativa, quando comparadas ao grupo controle. Esses dados estão de acordo com aqueles encontrados nos estudos de Samad et al. (2017) e Suliburska et al. (2013). No entanto, os dados dessa pesquisa foram diferentes dos resultados encontrados por Tascilar et al. (2011). Sobre este dado, é oportuno mencionar que este marcador constitui um componente sanguíneo de elevada labilidade, sendo passível de sofrer alterações agudas.

Assim, nesse estudo, também foi conduzida análise de zinco também nos eritrócito das mulheres obesas, sendo verificados valores reduzidos, quando comparados ao grupo controle, com diferença estatística significativa e inferiores ao padrão de normalidade. Esse resultado reflete alterações crônicas no estado nutricional relativo a esse mineral, uma vez que essas células possuem meia-vida longa (120 dias), o que evidencia a presença de distúrbios na homeostase do zinco à longo prazo nas obesas avaliadas.

Além disso, a análise de variância mostrou que as concentrações plasmáticas e eritrocitárias de zinco encontravam-se reduzidas no grupo de pacientes com obesidade grau II e III, quando comparadas com as mulheres eutróficas. Ainda nesse sentido, o estudo de associação entre a presença de obesidade e a existência de deficiência de zinco revelou elevado grau de associação. Esse resultado reforça a existência de alterações na distribuição do zinco na presença de obesidade, mesmo em situação de menor grau de adiposidade.

Com relação às concentrações de zinco na urina, estas estavam superiores nas participantes obesas, quando comparadas ao grupo controle, com diferença estatística significativa, embora os valores médios encontrados desse parâmetro estivessem abaixo do padrão de normalidade em ambos os grupos. A excreção urinária do mineral abaixo dos valores de referência nas mulheres obesas ratifica a

presença de descontrole metabólico nesse grupo, pois, em indivíduos saudáveis, ocorre redução dos valores excretados em situação de deficiência de zinco, para manutenção das suas concentrações plasmáticas (BONAVENTURA et al., 2015), fato não observado nas mulheres obesas avaliadas.

Nessa discussão, vale destacar aspectos importantes sobre o objeto desse estudo, ou seja, a provável influência do cortisol na distribuição alterada do zinco no organismo de indivíduos obesos. Assim, o aumento na produção de cortisol em tecidos periféricos poderia induzir a expressão da metalotioneína e ZIP-14, proteínas que promovem a redução do zinco sanguíneo. No entanto, os resultados não demonstraram correlação entre as concentrações séricas desse hormônio e parâmetros do zinco. Dessa forma, a hipozincemia evidenciada no estudo, pode ser decorrente de outros fatores e não apenas pelo cortisol, a exemplo do estresse oxidativo e da inflamação crônica subclínica, presentes na obesidade (MARTINS et al., 2014).

Destaca-se que o estresse oxidativo pode ter aumentado a demanda por esse micronutriente, pois o zinco atua como cofator de enzimas com ação antioxidante em tecidos específicos (MARREIRO et al., 2017). Associado a isso, a inflamação crônica pode ter induzido a expressão do MTF-1, que, por sua vez, promove influxo de zinco para os tecidos hepático e adiposo, o que pode ter contribuído para os resultados encontrados nessa pesquisa.

Ainda nessa discussão, ressalta-se que a análise das concentrações de cortisol no soro não constitui um parâmetro capaz de refletir o seu metabolismo, ou seja, não permite identificar o quanto de cortisol é secretado e convertido para a forma biologicamente ativa. Assim, tal biomarcador limita a obtenção de um resultado mais consistente sobre a sua influência no metabolismo do zinco, considerando que os efeitos do cortisol podem ser ampliados em tecidos específicos, independente das suas concentrações circulantes.

Considerando que os possíveis efeitos do cortisol sobre a homeostase do zinco podem trazer repercussões metabólicas, a exemplo da resistência à insulina em obesos, no presente estudo, foi avaliado o controle glicêmico das participantes. As concentrações séricas de glicose, insulina e valores médios dos índices de resistência à insulina não mostraram diferença estatística entre os grupos, estando dentro dos valores de normalidade. Entretanto, os valores de hemoglobina glicada

estavam significativamente superiores, quando comparados ao grupo controle, mesmo dentro dos valores de normalidade.

Os valores superiores de hemoglobina glicada, observados nas mulheres obesas avaliadas, refletem variações nas concentrações séricas de glicose à longo prazo, com elevações na glicemia durante um período de cerca de 3 meses (ADA, 2017). Assim, pode-se inferir que as participantes obesas desse estudo constituem candidatas em potencial para a manifestação de descontrole glicêmico.

Nessa abordagem, na perspectiva de um melhor entendimento sobre a influência da obesidade sobre o descontrole glicêmico, foi conduzida análise de correlação entre os parâmetros antropométricos IMC, peso e circunferência da cintura e alguns marcadores do controle glicêmico, como glicose de jejum, HOMA-IR e hemoglobina glicada, sendo observada correlação positiva significativa entre esses parâmetros. Tal resultado reforça a influência do aumento da adiposidade sobre o prognóstico do descontrole glicêmico dessas pacientes.

A análise de correlação entre os parâmetros bioquímicos do zinco e controle glicêmico das participantes obesas não evidenciou resultado significativo. Sobre esse dado, vale mencionar que, embora o zinco desempenhe papel importante na ação da insulina, outros fatores também influenciam a atuação desse hormônio, como outros nutrientes e hormônios.

Sobre os resultados da análise de regressão linear múltipla, observou-se que as variáveis zinco plasmático, eritrocitário, urinário e cortisol sérico não foram previsoras dos parâmetros glicêmicos em ambos os grupos. Nesse sentido, destacam-se alguns fatores que podem ter contribuído para ausência de resultado significativo entre as variáveis estudadas, a exemplo das concentrações séricas adequadas de cortisol e ausência de resistência periférica à ação da insulina.

Nesse estudo, é oportuno mencionar que o fato de não ter sido realizada análise de outros marcadores para a avaliação do metabolismo do cortisol, a exemplo do cortisol na saliva e urina, bem como possíveis erros de aferição, transporte e manuseio das amostras podem constituir limitações para uma discussão mais aprofundada dos resultados. Além disso, o tamanho amostral do estudo também pode ter inviabilizado a obtenção de resultados mais consistentes nas análises estatísticas conduzidas, em particular sobre os dados do consumo alimentar.

A partir dos dados do estudo, tem-se como perspectiva, buscar avançar na avaliação de outros biomarcadores do cortisol que possam proporcionar uma resposta mais eficaz sobre a atuação desse hormônio em organismos de obesos. Além disso, em pesquisas futuras, sugere-se identificar, por meio de parâmetros moleculares, a interação desse hormônio com os mecanismos envolvidos no metabolismo do zinco.

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

- As mulheres obesas avaliadas nesse estudo apresentam concentrações séricas adequadas de cortisol;
- O estudo aponta a existência de inadequação no estado nutricional relativo ao zinco nas mulheres obesas, caracterizada por valores elevados do mineral na dieta, com concentrações reduzidas nos eritrócitos, plasma e urina;
- A avaliação dos parâmetros do controle glicêmico não revela a existência de um quadro de resistência à insulina nas participantes do estudo;
- O estudo não evidencia a influência do cortisol sobre o metabolismo do zinco e a resistência à insulina nas mulheres obesas avaliadas nesse estudo.

REFERÊNCIAS

AMERICAN DIABETES ASSOCIATION (ADA). Standards of Medical Care in Diabetes. **Diabetes Care**, Alexandria, v. 35, n. 1, p. S11-S63, 2017.

ANÇÃO, M. S.; CUPPARI, L.; DRAINE, A. S.; SINGULEM, D. **Programa de apoio à nutrição Nutwin: versão 1.5**. São Paulo: Departamento de Informática em Saúde, SPDM, Unifesp/EPM, 2002. 1 CD-ROM.

ARCHER, T.K.; HAGER, G. L.; OMICHINSKI, J. G. Sequence-specific DNA binding by glucocorticoid receptor "zinc finger peptides". **Proc Natl Acad Sci USA.**, v. 87, n. 19, p. 7560–7564, 1990.

BALAZ, M.; VICIAN, M.; JANAKOVA, Z.; KURDIOVA, T.; SUROVA, M.; IMRICH, R et al. Subcutaneous adipose tissue zinc-alpha2-glycoprotein is associated with adipose tissue and whole-body insulin sensitivity. **Obesity (Silver Spring)**, v. 22, n. 8, p.1821–1829, 2014.

BATAGLINI, C.; REZENDE, D. G.; PRIMO, M. A.; GOMES, C. R.; PEDROSA, M. M.; GODOI, V. A. Glutamine dipeptide and cortisol change the liver glucose metabolism and reduce the severity of insulin-induced hypoglycaemia in untreated T1DM Swiss mice. **Arch Physiol Biochem.**, v. 123, n. 2, p. 134-144, 2017.

BEAUDRY, J. L.; RIDDELL, M. C. Effects of glucocorticoids and exercise on pancreatic β -cell function and diabetes development. **Diabetes Metab Res Rev.**, v.28, n.7, p. 560-73, 2012.

BENBAIBECHE, H.; HAFFAF, E. L. M.; KACIMI, G.; OUDJIT, B.; KHAN, N. A.; KOCEÏR, E. A. Implication of corticotropic hormone axis in eating behaviour pattern in obese and type 2 diabetic participants. **Br J Nutr.** v.113, n.8, p.1237-43, 2015.

BONAVENTURA, P.; BENEDETTI, G.; ALBARÈDE, F.; MIOSSEC, P. Zinc and its role in immunity and inflammation. **Autoimmun Rev.**, v.14, n.4, p.277-85, 2015.

BRANDÃO-NETO, J.; MENDONÇA, B. B.; SHUHAMA, T.; MARCHINI, J. S.; PIMENTA, W. P.; TORNERO, M. T. T. Zinc acutely and temporarily inhibits adrenal cortisol secretion in humans. **Biol Trace Elem Res.**, v.24, n.1, p. 83-9, 1990.

BRASIL. INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA – IBGE. **Pesquisa de orçamentos familiares 2008-2009: análise do consumo alimentar pessoal no Brasil**. IBGE, Coordenação de Trabalho e Rendimento. - Rio de Janeiro: IBGE, 2011. 150 p.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Resolução nº466/12**. Conselho Nacional de Pesquisa com Seres Humanos. Diário Oficial da União. Brasília, 2012.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. **Vigilância alimentar e nutricional - Sisvan: Orientações**

básicas para a coleta, processamento, análise de dados e informação em serviços de saúde. Brasília: Ministério da Saúde, 2004.

BUCHNER, D. A.; CHARRIER, A.; SRINIVASAN, E.; WANG, L.; PAULSEN, M.T.; LJUNGMAN, M. et al. Zinc finger protein 407 (ZFP407) regulates insulin-stimulated glucose uptake and glucose transporter 4 (Glut4) mRNA. **J Biol Chem.**, v. 290, n.10, p. 6376- 6386, 2015.

BUREN, J.; LIU, H.X.; JENSEN, J.; ERIKSSON, J. W. Dexamethasone impairs insulin signalling and glucose transport by depletion of insulin receptor substrate-1, phosphatidylinositol 3-kinase and protein kinase B in primary cultured rat adipocytes. **Eur J Endocrinol.**, v. 146, n. 3, p. 419–29, 2002.

BURY, N. R.; CHUNG, M. J.; STURM, A.; WALKER, P. A.; HOGSTRAND, C. Cortisol stimulates the zinc signaling pathway and expression of metallothioneins and ZnT1 in rainbow trout gill epithelial cells. **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.**, v.294; p.623-629, 2008.

CAPDOR, J.; FOSTER, M.; PETOCZ, P.; SAMMAN, S. Zinc and glycemic control: a meta-analysis of randomised placebo controlled supplementation trials in humans. **J Trace Elem Med Biol**, v. 27, n.2, p.137-42, 2013.

CHAO, A. M.; JASTREBOFF, A. M.; WHITE, M. A.; GRILO, C. M.; SINHA, R. Stress, cortisol, and other appetite-related hormones: Prospective prediction of 6-month changes in food cravings and weight. **Obesity (Silver Spring)**, v. 25, n. 4, p. 713-720, 2017.

CHASAPIS, C. T.; LOUTSIDOU, A. C.; SPILIOPOUDOU, C. A.; STEFANIDOU, M. E. Zinc and human health: an update. **Arch. Toxicol**, v. 86, n. 4, p. 521–534, 2012.

CHEN, D.; LI, X.; ZHAI, Z.; SHU, H. B. A novel zinc finger protein interacts with receptor-interacting protein (RIP) and inhibits tumor necrosis factor (TNF)- and IL1-induced NF-kappa B activation. **J Biol Chem.**, v. 277, n. 18, p. 15985- 15991, 2002.

CHEN, Z.; AI, H. W. Single Fluorescent Protein-Based Indicators for Zinc Ion (Zn²⁺). **Anal Chem.**, v. 88, n. 18, p. 9029–9036, 2016.

COMINETTI, C.; GARRIDO-JÚNIOR, A. B.; COZZOLINO, S. M. F. Zinc Nutritional Status of Morbidly Obese Patients Before and After Roux-en-Y Gastric Bypass: A Preliminary Report. **Obesity Surgery**, v.16, p.448-453, 2006.

COOPER-CAPETINI, V.; VASCONCELOS, D. A. A.; MARTINS, A. R.; HIRABARA, S. M.; DONATO, J. JR.; CARPINELLI, A. R et al. Zinc Supplementation Improves Glucose Homeostasis in High Fat-Fed Mice by Enhancing Pancreatic β -Cell Function. **Nutrients**. v. 9, n.10, pii: E1150, 2017.

CRUZ, K. J. C.; MORAIS, J. B. S.; OLIVEIRA, A. R. S.; SEVERO, J. S.; OLIVEIRA, A. R.; MARREIRO, D. N. M. The Effect of Zinc Supplementation on Insulin Resistance in Obese Subjects: a Systematic Review. **Biol Trace Elem Res**. v.176, n. 2, p. 239-243, 2017.

DEMAEGDT, H.; DE BACKER, J. P.; LUKASZUK A, T. G.; SZEMENYEI E, T. D.; VAUQUELIN, G. Angiotensin IV displays only low affinity for native insulin-regulated aminopeptidase (IRAP). **Fundam Clin Pharmacol.**, v. 26, n. 2, p. 194-197, 2012.

DESARZENS, S.; FARESE, N. Adipocyte glucocorticoid receptor has a minor contribution in adipose tissue growth. **J Endocrinol.**, v. 230, n.1, p. 1-11, 2016.

FEITOSA, M. C. P.; LIMA, V. B. S.; MARREIRO, D. N. Participation of inflammation on zinc metabolism in obesity. **Nutrire**, v.37, n.1, p. 93-104, 2012.

FERRO, F. E. D.; LIMA, V. B. S.; SOARES, N. R. M.; COZZOLINO, S. M. F.; MARREIRO, D. N. Biomarkers of metabolic syndrome and its relationship with the zinc nutritional status in obese women. **Nutr Hosp.**; v.26, n.3: p.650-654, 2011.

FISBERG, R. M.; MARCHIONI, D. M. L.; SLATER, B.; MARTINI, L. A. Inquéritos alimentares: Métodos e Bases Científicas. São Paulo: **Manole**, 2005.

FONTENELLE, L. C.; FEITOSA, M. M.; SEVERO, J. S.; FREITAS, T. E.; MORAIS, J. B.; TORRES-LEAL, F.L. et al. Thyroid Function in Human Obesity: Underlying Mechanisms. **Horm Metab Res.** v. 48, n. 12, p. 787-794, 2017.

FOSTER, M.; CHU, A.; PETOCZ, P.; SAMMAN, S. Zinc transporter gene expression and glycemic control in post-menopausal women with Type 2 diabetes mellitus. **J Trace Elem Med Biol.** v.28, n.4, p.448-52, 2014.

FRAKER, P. J.; OSATI-ASHTIANI, F.; WAGNER, M. A.; KING, L. E. Possible roles for glucocorticoids and apoptosis in the suppression of lymphopoiesis during zinc deficiency: A review. **J Am Coll Nutr.**, v. 14, n. 1, p. 11–17. 1995.

FUNG, E. B.; GILDENGORIN, G.; TALWAR, S.; HAGAR, L.; LAL, A. Zinc status affects glucose homeostasis and insulin secretion in patients with thalassemia. **Nutrients.** v.7, n. 6, p. 4296-307, 2015.

GARCÍA, E. A. Obesidade, tecido adiposo e resistência à insulina. **Acta Bioquím Clín Latinoam.**, v .46, p. 183-194, 2012

GARCÍA, O. P.; RONQUILLO, D.; CAAMAÑO, M. C.; MARTÍNEZ, G.; CAMACHO, M.; LÓPEZ, V. et al. Zinc, Iron and Vitamins A, C and E Are Associated with Obesity, Inflammation, Lipid Profile and Insulin Resistance in Mexican School-Aged Children. **Nutrients**, v. 5, n. 12, p. 5012-5030, 2013.

GATHERCOLE, L. L.; BUJALSKA, I. J.; STEWART, P. M.; TOMLINSON, J. W. Glucocorticoid modulation of insulin signaling in human subcutaneous adipose tissue. **J Clin Endocrinol Metab.**, v. 92, n. 11, p.4332–9, 2007.

GATHERCOLE, L. L.; MORGAN, S. A.; BUJALSKA, I. J.; HAUTON, D.; STEWART, P. M.; TOMLINSON, J. W. Regulation of lipogenesis by glucocorticoids and insulin in human adipose tissue. **PLoS One.**, v. 6, n. 10, e26223, 2011.

- GAUTAM, S.; PLATEL, K.; SRINIVASAN, K. Influence of B-Carotene-Rich Vegetables on The Bioaccessibility of Zinc and Iron From Food Grains. **Food Chemistry**, v.122, n.3, p.668-672, 2010.
- GEER, E. B.; ISLAM, J.; BUETTNER, C. Mechanisms of glucocorticoid-induced insulin resistance: focus on adipose tissue function and lipid metabolism. **Endocrinol Metab Clin North Am**. v. 43, n.1, p.75-102, 2014.
- GIBSON, R. S. A Historical Review of Progress in the Assessment of Dietary Zinc Intake as an Indicator of Population Zinc Status. **Adv. Nutr.** v.3, p.772-82, 2012.
- GIBSON, R.S. **Assessment of chromium, copper and zinc status**. In: GIBSON, R.S. Principles of Nutritional Assessment, New York: Oxford University Press: cap.24, p.711-30, 2005.
- GOPALSAMY, G. L.; ALPERS, D. H.; BINDER, H. J.; TRAN, C. D.; RAMAKRISHNA, B. S.; BROWN, I et al. The relevance of the colon to zinc nutrition. **Nutrients**, v.7, n.1, p.572-583, 2015.
- GUTHRIE, H. A.; PICCIANO, M. F. **Micronutrient minerals**. In: Guthrie. HA, Picciano MF eds. Human Nutrition, p. 351-7, 1994.
- HACKETT, R. A.; KIVIMÄKI, M.; KUMARI M, S. A. Diurnal Cortisol Patterns, Future Diabetes, and Impaired Glucose Metabolism in the Whitehall II Cohort Study. **J Clin Endocrinol Metab.**, v. 101, n. 2, p. 619-625, 2016.
- HAUBROCK, J.; NÖTHLINGS, U.; VOLATIER, J. L.; DEKKERS, A.; OCKÉ, M. et al. Estimating usual food intake distributions by using the multiple source method in the EPIC-Potsdam Calibration Study. **J Nutr.**, v. 141, n. 5, p. 914-920, 2011.
- HAZLEHURST, J. M.; GATHERCOLE, L. L.; NASIRI, M.; ARMSTRONG, M. J.; BORROWS, S et al. Glucocorticoids fail to cause insulin resistance in human subcutaneous adipose tissue in vivo. **J Clin Endocrinol Metab**. v. 98, n. 4, p.1631–40, 2013.
- HUNT, J. R.; BEISEIGEL, J. M.; JOHNSON, L. K. Adaptation in human zinc absorption as influenced by dietary zinc and bioavailability. **Am J Clin Nutr.** v. 87, p. 1336–1345, 2008.
- INSTITUTE OF MEDICINE. **Dietary Reference Intakes for Energy Carbohydrate, Fiber, Fat, Fatty Acids, Cholesterol, Protein, and Amino Acid**. Washington, DC: National Academies Press, 2005.
- INSTITUTE OF MEDICINE. **Dietary reference intakes for vitamin A, vitamin K, arsenic, boron, chromium, copper, iodine, iron, manganese, molybdenum, nickel, silicon, vanadium, and zinc**. National Academy, Washington, DC, p. 650, 2001.
- INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz**. 3. ed. São Paulo: IMESP, 1985. 523 p.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Tabelas de Composição Nutricional dos Alimentos Consumidos no Brasil**. Rio de Janeiro, 2011.

JAIME, P. C.; LATORRE, M. R. D. O.; FORNÉS, N. S.; ZERBINI, C. A. F. Comparative study among two methods for energy adjustment for nutrient intake. **Nutrire**, v. 26, n. único, p. 11-18, 2003.

JANSEN, J.; KARGES, W.; RINK, L. Zinc and diabetes: clinical links and molecular mechanisms. **J Nutr Biochem**. v. 20, n. 6, p. 399-417, 2009.

JANSEN, J.; ROSENKRANZ, E.; OVERBECK, S.; WARMUTH, S.; MOCCHIGIANI, E.; GIACCONI, R. Disturbed zinc homeostasis in diabetic patients by in vitro and in vivo analysis of insulinomimetic activity of zinc. **J Nutr Biochem**. v.23, n.11, p.1458-66, 2012.

JUROWSKI, K.; SZEWCZYK, B.; NOWAK, G.; PIEKOSZEWSKI, W. Biological consequences of zinc deficiency in the pathomechanisms of selected diseases. **J Biol Inorg Chem**. v. 19, n.7, p. 1069-1079, 2014.

KAMBE, T.; HASHIMOTO, A.; FUJIMOTO, S. Current understanding of ZIP and ZnT zinc transporters in human health and diseases. **Cell Mol Life Sci**. v.71, n. 17, p. 3281-95, 2014.

KAMBE, T.; TSUJI, T.; HASHIMOTO, A.; ITSUMURA, N. The physiological, biochemical, and molecular roles of zinc transporters in zinc homeostasis and metabolism. **Physiol Rev.**, v.95, n.3, p.749-84, 2015.

KAMBLE, P. G.; PEREIRA, M. J.; SIDIBEH, C.O.; AMINI, S.; SUNDBOM, M.; BÖRJESSON, J. L. Lipocalin 2 produces insulin resistance and can be upregulated by glucocorticoids in human adipose tissue. **Mol Cell Endocrinol**. v. 15, n. 427, p. 124-32, 2016.

KELISHADI, R.; HASHEMIPOUR, M.; ADELI, K.; TAVAKOLI, N.; MOVAHEDIAN-ATTAR, A.; SHAPOURI, J. et al. Effect of zinc supplementation on markers of insulin resistance, oxidative stress, and inflammation among prepubescent children with metabolic syndrome. **Metab Syndr Relat Disord.**, v.8, n.6, p. 505-10, 2010.

KIM, J.; AHN, J. Effect of zinc supplementation on inflammatory markers and adipokines in young obese women. **Biol Trace Elem Res.**, v. 157, n. 2, p. 101-106, 2014.

KING, L. E.; OSATI-ASHTIANI, F.; FRAKER, P. J. Apoptosis plays a distinct role in the loss of precursor lymphocytes during zinc deficiency in mice. **J Nutr.**, v. 132, n.5, p. 974-979, 2002.

LAUREANO, G. H. C.; TORMAN, V. B. L.; CRISPIM, S. P. C.; DEKKERS, A. L. M.; CAMEY, S. A. Comparison of the ISU, NCI, MSM, and SPADE Methods for

Estimating Usual Intake: A Simulation Study of Nutrients Consumed Daily. **Nutrients.**, v. 8, n. 3, p. 166., 2016.

LIM, S.; SON, K. R.; SONG, I. C.; PARK, H. S.; JIN, C. J.; JANG, H. C et al. Fat in liver/muscle correlates more strongly with insulin sensitivity in rats than abdominal fat. **Obesity (Silver Spring)**, v. 17, n. 1, p. 188–95, 2009.

LINSSEN, M. M.; VAN RAALTE, D. H.; TOONEN, E. J.; ALKEMA, W.; VAN DER ZON, G. C.; DOKTER, W. H. Prednisolone-induced beta cell dysfunction is associated with impaired endoplasmic reticulum homeostasis in INS-1E cells. **Cell Signal**. v. 23, n.11, p.1708-15, 2011.

LIUZZI, J.P.; LICHTEN, L.A.; RIVERA, S.; BLANCHARD, R.K.; AYDEMIR, T.B.; KNUTSON, M.D.; GANZ, T.; COUSINS, R.J. Interleukin-6 regulates the zinc transporter Zip14 in liver and contributes to the hypozincemia of the acute-phase response. **Pnas**, v. 102, p. 6843-8, 2005.

LOWE, N. M.; FEKETE, K.; DECSI, T. Methods of assessment of zinc status in humans: a systematic review. **Am J Clin Nutr.**, v.89, n.6, p.2040S-2051S, 2009.

LUNDGREN, M.; BUREN, J.; RUGE, T.; MYRNÄS, T.; ERIKSSON, J. W. Glucocorticoids down-regulate glucose uptake capacity and insulin-signaling proteins in omental but not subcutaneous human adipocytes. **J Clin Endocrinol Metab.**, v. 89, n. 6, p. 2989–97, 2004.

MACFARLANE, D. P.; RAUBENHEIMER, P. J.; PRESTON, T.; GRAY, C. D.; BASTIN, M.E.; MARSHALL, I et al. Effects of acute glucocorticoid blockade on metabolic dysfunction in patients with Type 2 diabetes with and without fatty liver. **Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol**. v. 307, n. 7, p.760-8, 2014.

MARREIRO, D. D.; CRUZ, K. J.; MORAIS, J. B. S.; BESERRA, J. B.; SEVERO, J. S.; DE OLIVEIRA, A. R. Zinc and Oxidative Stress: Current Mechanisms. **Antioxidants (Basel)**, v. 6, n. 2, pii: E24, 2017.

MARREIRO, D.N.; GELONEZE, B.; TAMBASCIA, M.A.; LERÁRIO, A.C.; HALPERN, A.; COZZOLINO, S.M. Effect of zinc supplementation on serum leptin levels and insulin resistance of obese women. **Biol Trace Elem Res.**, v.112, n. 2, p. 109-18. 2006.

MARTINS, L.M.; OLIVEIRA, A.R.S.; CRUZ, K.J.C.; ARAÚJO, C.G.B.; OLIVEIRA, F.E.; SOUSA, G.S et al. Influence of cortisol on zinc metabolism in morbidly obese women. **Nutr. Hosp**. v.29, p.57-63, 2014.

MATTHEWS, D. R.; HOSKER, J. P.; RUDENSKI, A. S.; NAYLOR, B. A.; TREACHER, D. F.; TURNER, R. C. Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. **Diabetologia**, Berlin, v. 28, n. 7, p. 412-419, 1985.

MILLER, L. V.; HAMBIDGE, K. M.; KREBS, N. F. Zinc absorption is not related to dietary phytate intake in infants and young children based on modeling combined data from multiple studies. **J Nutr.**, v.145, n.8, p.1763-9, 2015.

MOLICA, F.; MOREL, S.; KWAK, B. R.; ROHNER-JEANRENAUD, F.; STEFFENS, S. Adipokines at the crossroad between obesity and cardiovascular disease. **Thromb Haemost.** v.113, n. 3, p. 553-566, 2015.

MORAIS, J. B. S.; SEVERO, J. S.; OLIVEIRA, A. R.; CRUZ, K. J.; DIAS, T. M. S.; ASSIS, R. C et al. Magnesium Status and Its Association with Oxidative Stress in Obese Women. **Biol Trace Elem Res.** v.175, n.2, p. 306-31, 2017.

MORGAN, S. A.; GATHERCOLE, L. L.; SIMONET, C.; HASSAN-SMITH, Z. K.; BUJALSKA, I.; GUEST, P. Regulation of lipid metabolism by glucocorticoids and 11beta-HSD1 in skeletal muscle. **Endocrinology**, v.154, n.7, p. 2374–84, 2013.

MSM. Multiple Source Method (MSM) for estimating usual dietary intake from short-term measurement data: user guide. EFCOVAL: Potsdam, 2011. 41p.

NIEMAN, L. K.; BILLER, B. M. K.; FINDLING, J. W.; NEWELL-PRICE, J.; SAVAGE, M. O.; STEWART, P. M et al. The Diagnosis of Cushing's Syndrome: An Endocrine Society Clinical Practice Guideline. **J Clin Endocrinol Metab.**, v. 93, n. 5, p. 1526–1540, 2008.

NOH, H.; PAIK, H. Y.; KIM, J.; CHUNG, J. The Changes of Zinc Transporter ZnT Gene Expression in Response to Zinc Supplementation in Obese Women. **Biol Trace Elem Res**, v.162, n.1-3, p.38-45, 2014.

NOLASCO, M. P. B. Diagnóstico Clínico e Laboratorial – Composição Corporal. In: FISBERG, M. **Obesidade na Infância e adolescência.** São Paulo: Fundação BYK, 1995.

OLIVEIRA, A.R.; CRUZ, K.J.; MORAIS, J.B.; SEVERO, J.S.; FREITAS, T.E.; VERAS, A.L et al. Magnesium status and its relationship with c-reactive protein in obese women. **Biol Trace Elem Res.** v.168, n.2, p. 296-302, 2015.

OYEDEJI, S. O.; ADESINA, A. A.; OKE, O. T.; TIJAN, Y. O. Evaluation of essential trace metals in female type 2 diabetes mellitus patients in Nigerian population. **Afr J Biotechnol.**, v.13, n.18, 1910-14, 2014.

PECKETT, A. J.; WRIGHT, D. C.; RIDDELL, M. C. The effects of glucocorticoids on adipose tissue lipid metabolism. *Metabolism.* v. 60, n.11, p.1500-10, 2011.

RAFACHO, A.; ORTSÄTER, H.; NADAL, A.; QUESADA, I. Glucocorticoid treatment and endocrine pancreas function: implications for glucose homeostasis, insulin resistance and diabetes. **J Endocrinol.**, v. 223, n. 3, p. 49-62, 2014.

RANASINGHE, P.; PIGERA, S.; GALAPPATTHY, P.; KATULANDA, P.; CONSTANTINE, G. R. Zinc and diabetes mellitus: understanding molecular mechanisms and clinical implications. **Daru.** v. 17, p. 23- 44, 2015.

- RASK, E.; WALKER, B. R.; SODERBERG, S.; LIVINGSTONE, D. E.; ELIASSON, M.; JOHNSON, O. Tissue-specific changes in peripheral cortisol metabolism in obese women: increased adipose 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase type 1 activity. **J Clin Endocrinol Metab.** v. 87, n. 7, p. 3330–3336, 2002.
- RODRIGUEZ, A. C. I.; EPEL, E. S.; WHITE, M. L.; STANDEN, E. C.; SECKL, J. R. TOMIYAM. J. A. Hypothalamic-pituitary-adrenal axis dysregulation and cortisol activity in obesity: A systematic review. **Psychoneuroendocrinology.**, v. 62, p. 301–318, 2015.
- ROMA, L. P.; OLIVEIRA, C. A.; CARNEIRO, E. M.; ALBUQUERQUE, G. G.; BOSCHERO, A. C.; SOUZA, K. L. N-acetylcysteine protects pancreatic islet against glucocorticoid toxicity. **Redox Rep**, v.16, n.4, p.173-80, 2011.
- ROSA, G.; FORTES, M. S. R.; MELLO, D. B. Concurrent Training Decreases Cortisol but Not Zinc Concentrations: Effects of Distinct Exercise Protocols. *Scientifica (Cairo)*. v.2016, e7643016, 2016.
- ROSENSTOCK, J.; BANARER, S.; FONSECA, V. A.; INZUCCHI, S. E.; SUN, W.; YAO, W et al. The 11-beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 1 inhibitor INCB13739 improves hyperglycemia in patients with type 2 diabetes inadequately controlled by metformin monotherapy. **Diabetes Care.** v. 33, n. 7 p. 1516–1522, 2010.
- RUZ, M.; CARRASCO, F.; ROJAS, P.; CODOCEO, J.; INOSTROZA, J.; BASFIFER, K. et al. Zinc as a potential adjuvant in therapy for type 2 diabetes. **Food Nutr Bull.**, v. 34, n. 2, p. 215-221, 2013.
- SAMAD, N. Serum levels of leptin, zinc and tryptophan with obesity: A case-control study. **Pak J Pharm Sci.**, v. 30, n. 5, p. 1691-1696, 2017.
- SCHERER, T.; LINDTNER, C.; ZIELINSKI, E.; O'HARE, J.; FILATOVA, N.; BUETTNER, C. Short term voluntary 228overfeeding disrupts brain insulin control of adipose tissue lipolysis. **J Biol Chem.**, v. 287, n. 39, p. 33061-33069, 2012.
- SHAO, S.; ZHANG, X.; ZHANG, M. Inhibition of 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase type 1 ameliorates obesity-related insulin resistance. **Biochem Biophys Res Commun.**, v. 478, n. 1, p. 474-480, 2016.
- SHIBATA, R.; OUCHI, N.; OHASHI, K.; MUROHARA, T. The role of adipokines in cardiovascular disease. **J Cardiol.** v. 70, n. 4, p. 329-334, 2017.
- SOUVEREIN, O. W.; DEKKERS, A. L.; GEELEN, A.; HAUBROCK, J.; DE VRIES, J. H.; OCKÉ, M. C et al. Comparing four methods to estimate usual intake distributions. **Eur J Clin Nutr.**, v. 65, Suppl 1:S92-101, 2011.
- STUBBS, M.; YORK, D. A. Central glucocorticoid regulation of parasympathetic drive to pancreatic B-cells in the obese fa/fa rat. **Int J Obes.** v.15, n.8, p. 547-53, 1991.

SULIBURSKA, J.; COFTA, S.; GAJEWSKA, E.; KALMUS, G.; SOBIESKA, M.; SAMBORSKI, W et al. The evaluation of selected serum mineral concentrations and their association with insulin resistance in obese adolescents. **Eur Rev Med Pharmacol Sci**, v. 17, n. 17, p. 2396-2400, 2013.

SVENDSEN, P. F.; MADSBAD, S.; NILAS, L.; PAULSEN, S. K.; PEDERSEN, S. B. Expression of 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase 1 and 2 in subcutaneous adipose tissue of lean and obese women with and without polycystic ovary syndrome. **Int J Obes (Lond)**, v. 33(11):1249-56, 2009.

TACO. **Tabela Brasileira de Composição de Alimentos**. 4. ed. Campinas, SP: NEPA-UNICAMP, 2011.

TAKEDA, A.; TAMANO, H. Insight into zinc signaling from dietary zinc deficiency. **Brain research review**, v. 62, n. 4, p. 33 – 44, 2009.

TAKEDA, A.; TAMANO, H. Zinc Signaling Through Glucocorticoid and Glutamate Signaling in Stressful Circumstances. **Neurosci Res.**, v. 88, n. 14, p. 3002–3010, 2010.

TAKEDA, A.; TAMANO, H.; OGAWA, T.; TAKADA, S.; ANDO, M.; OKU, N.; WATANABE, M. Significance of serum glucocorticoid and chelatable zinc in depression and cognition in zinc deficiency. **Behav Brain Res**. v. 226, p. 259– 264, 2012.

TASCILAR, M. E.; OZGEN, I.T.; ABACI, A.; SERDAR, M.; AYKUT, O. Trace elements in obese Turkish children. **Biol Trace Elem Res**. v.143, n. 1, p. 188–195. 2011.

The Oxford Centre for Diabetes. Endocrinology & Metabolism. **Diabetes Trial Unit. HOMA Calculator**. Available from: <http://www.dtu.ox.ac.uk/> Acesso em dezembro, 2017.

TROESCH, B.; JING, H.; LAILLOU, A.; FOWLER, A. Absorption studies show that phytase from *Aspergillus niger* significantly increases iron and zinc bioavailability from phytate-rich foods. **Food Nutr Bull.**, v. 34, supl.2, p.90-101, 2013.

VAN ASSENDELFT, O. W. **The measurement of hemoglobin**. In: IZAK, G.; LEWIS, S.M. eds. Modern concepts in hematology. New York: Academic press, p.14-25, 1972.

VARDATSIKOS, G.; PANDEY, N. R.; SRIVASTAVA, A. K. Insulino-mimetic and anti-diabetic effects of zinc. **J Inorg Biochem.**, v. 120, p. 8-17, 2013.

WALTER, P. L.; KAMPKÖTTER, A.; ECKERS, A.; BARTHEL, A.; SCHMOLL, D.; SIES, H.; KLOTZ, L. O. Modulation of FoxO signaling in human hepatoma cells by exposure to copper or zinc ions. **Arch Biochem Biophys.**, v. 454, n. 2, p. 107-13, 2006.

WANG, X.; ZHOU, B. Dietary zinc absorption: a play of Zips and ZnTs in the gut. **IUBMB Life**, v. 62, n.3, p. 176-82, 2010.

WHITEHOUSE, R. C.; PRASAD, A. S.; RABBANI, P. I.; COSSACK, Z. T. Zinc in plasma, neutrophils, lymphocytes, and erythrocytes as determined by flameless atomic absorption spectrophotometry. **Clinical Chemistry**, New York, v. 28, n. 3, p. 475-480, 1982.

WIERINGA, F. T.; DIJKHUIZEN, M. A.; FIORENTINO, M.; LAILLOU, A.; BERGER, J. Determination of zinc status in humans: which indicator should we use? **Nutrients**, v.7, n.5, p. 3252-63, 2015.

WILLETT, W. C.; HOWE, G. R.; KUSHI, L. H. Adjustment for total energy intake in epidemiologic studies. **Am J Clin Nutr.**, v. 65, suppl. 4, p.1220-8, 1997.

WILLETT, W.; STAMPFER, M. J. Total energy intake: implications for epidemiologic analyses. **American Journal of Epidemiology**, Baltimore, v. 124, n. 1, p. 17-27, 1986.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Obesity: Preventing and managing the global epidemic. **Technical report series**, Geneva, n.894, 2000.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Waist Circumference and Waist–Hip Ratio: Report of a WHO Expert Consultation**. Geneva, 2008.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. World health statistics. **Technical report series**, Geneva, 2012.

YANG, J.; ZHANG, Y.; CUI, X.; YAO, W.; YU, X.; CEN, P. M et al. Gene profile identifies zinc transporters differentially expressed in normal human organs and human pancreatic cancer. **Curr Mol Med.**, v. 13, n. 3, p. 401-409, 2013.

YUAN, X.; LI, H.; BAI, H.; ZHAO, X.; ZHANG, C.; LIU, H. et al. The 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase type 1 inhibitor protects against the insulin resistance and hepatic steatosis in db/db mice. **Eur J Pharmacol**, v. 27, n. 788, p.140-151, 2016.

APÊNDICES

APÊNDICE A - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO E CULTURA
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ALIMENTOS E NUTRIÇÃO**
Campus Universitário Ministro Petrônio Portella - Bairro Ininga – Teresina/PI

CEP: 64049-550 - Fone (86) 3215 5437.

E-mail: ppgan@ufpi.edu.br

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Título do projeto: Status do Zinco e sua Relação com 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 Moraes, Jéssica Batista Beserra, Juliana Soares Severo

Telefone para contato (inclusive a cobrar): (86) 99911-7297 (tim)/ 99800-4216(tim) / 99990-2368(tim)/ 99452-7663 (claro)

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 Mestrandas Jennifer Beatriz Silva Moraes, Jéssica Batista Beserra, Juliana Soares Severo, 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 zinco e sua relação com distúrbios endócrino-metabólicos em mulheres obesas mórbidas. Para tanto, a voluntária será submetida à suplementação medicamentosa e à coleta de sangue venoso para análise do zinco, colesterol total, HDL-colesterol, triglicérides, TSH, T3 e T4 livres, T3 e T4 totais, anticorpos tireoideanos antitireoperoxidase e antitireoglobulina, interleucina-6, fator de necrose tumoral α , interleucina-1 β , interleucina-10, proteína C reativa, TGF- β , adiponectina, zinco- α 2-glicoproteína, leptina, glicose, insulina, cortisol, atividade das enzimas superóxido dismutase e glutatona peroxidase, creatinina sérica, malondialdeído, bem como à coleta de urina para determinação de zinco 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.

Ao participar da pesquisa, a voluntária 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 dois anos, com término previsto para o primeiro semestre de 2018.

Nomes e assinaturas dos pesquisadores

Jennifer Beatriz Silva Morais

Jéssica Batista Beserra

Juliana Soares Severo

Dilina do Nascimento Marreiro

CONSENTIMENTO DA PARTICIPAÇÃO DA PESSOA COMO SUJEITO

Eu, _____, RG _____, CPF _____, abaixo assinado, concordo em participar do estudo “Status do Zinco e sua Relação com Distúrbios Endócrino-Metabólicos em Mulheres Obesas Mórbidas”, como sujeito. Tive pleno conhecimento das informações que li ou que foram lidas para mim, descrevendo o estudo. Discuti com as mestrandas Jennifer Beatriz Silva Morais, Jéssica Batista Beserra e Juliana Soares Severo 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 do 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 B - FICHA DE CADASTRO DAS PARTICIPANTES DA PESQUISA

IDENTIFICAÇÃO

Nº Formulário: _____

Data: ____/____/____

Nome: _____

DN: ____/____/____ Idade: ____ anos

Endereço: _____

Bairro: _____ Cidade: _____

Telefone: _____ Celular 1: _____ Celular 2: _____

Número de pessoas em casa: _____

HISTÓRIA CLÍNICA

a) Uso de medicamentos: Sim () Não () Quais? _____

b) Uso de Suplementos: Sim () Não () Quais? _____

c) Presença de doenças: Sim () Não () Qual?

Diabetes () DRC () Doença Hepática () DCV () Câncer () Disfunção da Tireoide

Outras: _____

PARÂMETROS ANTROPOMÉTRICOS

Peso (kg)	
Estatura (m)	
IMC (kg/m ²)	
Circunferência da Cintura (cm)	

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:** _____



A: Colher de servir; **B:** Colher de sopa; **C:** Colher de sobremesa; **D:** Colher de chá; **E:** Concha de servir **F:** Prato de sobremesa



Copo americano



G: Xícara cheia; **H:** Xícara nivelada; **I:** Xícara média

APÊNDICE D – INSTRUÇÕES ÀS PARTICIPANTES QUANTO À OBTENÇÃO DE URINA DE 24 HORAS

Para se obter exatidão do resultado é muito importante que a urina seja coletada cuidadosamente. A obtenção da urina será realizada em frasco plástico de 2 litros, previamente desmineralizado, sem conservante e deve ser mantida REFRIGERADA até o horário da entrega.

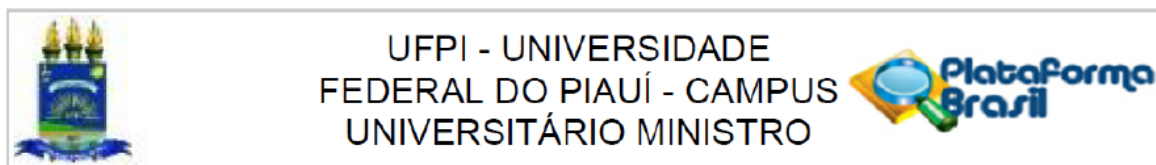
A urina deverá ser obtida da seguinte forma: pela manhã, ao acordar, a paciente irá esvaziar a bexiga (desprezar a primeira urina, ou seja, não deverá guardá-la no frasco) e marcar rigorosamente este horário. Daí por diante, coletar todas as urinas do dia e da noite, integralmente a cada micção, colocando-as no frasco de coleta e mantido em geladeira (não congelar) entre as micções.

No dia seguinte coletar a 1ª urina da manhã, no mesmo horário que desprezou a 1ª urina do dia anterior e no mesmo frasco completando assim o período de 24 horas.

ATENÇÃO: Todo o material será fornecido pelo pesquisador.

ANEXOS

ANEXO A – PARECER CONSUBSTANCIADO DO COMITÊ DE ÉTICA/UFPI



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: STATUS DO ZINCO E SUA RELAÇÃO COM DISTÚRBIOS ENDÓCRINO-METABÓLICOS EM MULHERES OBESAS MÓRBIDAS

Pesquisador: Dilina do Nascimento Marreiro

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 62283116.6.0000.5214

Instituição Proponente: Universidade Federal do Piauí - UFPI

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.848.088

Apresentação do Projeto:

Trata-se de projeto de pesquisa intitulado STATUS DO ZINCO E SUA RELAÇÃO COM DISTÚRBIOS ENDÓCRINO-METABÓLICOS EM MULHERES OBESAS MÓRBIDAS, que tem como pesquisador responsável o prof. (a) Dilina do Nascimento Marreiro, como pesquisador assistente as Sr.(as) Jennifer Beatriz Silva Moraes, Jéssica Batista Beserra, e Juliana Soares Severo.

Para o desenvolvimento da pesquisa, o pesquisador apresenta como justificativa que atualmente, os minerais têm sido alvo de pesquisas com intuito de esclarecer a influência destes nos distúrbios endócrino-metabólicos presentes em obesos. O zinco, em particular, é importante por sua atuação como nutriente antioxidante, anti-inflamatório, indutor da secreção de insulina e sensibilizador da ação desse hormônio, bem como por sua participação no metabolismo energético, em particular como cofator da zinco-2-glicoproteína e na síntese e conversão dos hormônios tireoidianos, indicando no desenho do estudo a utilização da metodologia de estudo de natureza transversal, analítico, com caso e controle.

Para o recrutamento o pesquisador convidará pacientes de uma clínica particular.

Endereço: Campus Universitário Ministro Petronio Portella - Pró-Reitoria de Pesquisa
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
UNIVERSITÁRIO MINISTRO



Continuação do Parecer: 1.848.088

São indicados como critérios de inclusão e exclusão, respectivamente: As participantes serão selecionadas por meio de entrevista, com os seguintes critérios de inclusão: idade entre 20 e 50 anos, índice de massa corpórea a partir de 40,0 kg/m² (grupo caso) e entre 18,5 e 24,9 kg/m² (grupo controle), ausência de diabetes mellitus, doenças gastrointestinais crônicas (doença inflamatória intestinal, doença celíaca), doença renal crônica, câncer ou infecções recentes; não estar gestante ou lactante; não estar participando de outro estudo clínico; não fazer uso de suplemento vitamínico-mineral e/ou medicamentos que possam interferir no cortisol e no estado nutricional relativo ao zinco; não fumantes; não ingerir álcool de forma crônica.

Assim, foi estabelecida para a pesquisa uma amostra de 124 participantes.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

Avaliar o status zinco e sua relação com distúrbios endócrino-metabólicos em mulheres obesas.

Objetivo Secundário:

- Determinar as concentrações do zinco plasmático, eritrocitário e urinário, bem como estimar o consumo alimentar desse mineral e sua adequação na dieta;
- Determinar as concentrações séricas de zinco-2-glicoproteína, lipídios, leptina e dos hormônios e anticorpos tireoidianos;
- Determinar as concentrações séricas e urinárias de cortisol; • Avaliar o controle glicêmico e a resistência à insulina;
- Determinar as concentrações plasmáticas do malondialdeído;
- Avaliar a função renal.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos:

A possível dificuldade para a execução desta pesquisa envolve a baixa adesão das mulheres obesas a participar do estudo. Entretanto, considerando a experiência dos pesquisadores envolvidos no projeto, tal dificuldade não tornará inviável a execução do mesmo dentro do cronograma estabelecido. Ao participar da pesquisa, a voluntária não sofrerá nenhum prejuízo, no entanto, as perguntas presentes na ficha de cadastro e no registro alimentar, poderão levar a um possível constrangimento da participante. Além disso,

Endereço: Campus Universitário Ministro Petronio Portella - Pró-Reitoria de Pesquisa
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
UNIVERSITÁRIO MINISTRO



Continuação do Parecer: 1.848.088

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.

Benefícios:

As participantes receberão os resultados da avaliação antropométrica e dos exames bioquímicos, além de orientações nutricionais específicas, de acordo com seu estado nutricional e de saúde.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Realizada a análise documental a partir da qual foi procedida a uma apreciação ética da pesquisa, restou evidenciada a sua pertinência e valor científico.

A metodologia escolhida para o desenvolvimento da pesquisa, tendo em vista as várias correntes metodológicas existentes, encontra-se em conformidade com os fins objetivados, ao tempo em que evidencia o respeito aos preceitos éticos orientadores de uma pesquisa envolvendo seres humanos.

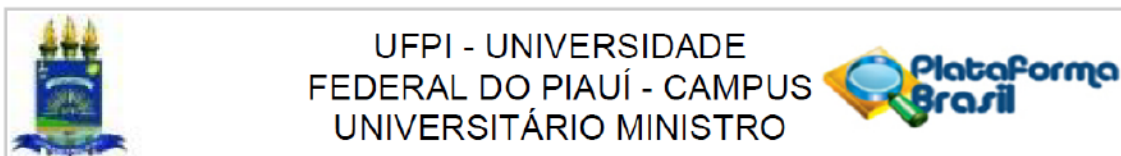
Na elaboração do projeto de pesquisa ora em apreço, percebe-se a atenção do pesquisador no que concerne à situação de vulnerabilidade inerente à condição de participante que, respeitado em sua individualidade, tem protegidas as suas dimensões física, psíquica, moral, intelectual, social, cultural e espiritual.

Por fim, o pesquisador responsável é profissional experiente, como evidenciado pelo currículo anexado, sendo tal circunstância mais um instrumento de segurança conferida ao participante que estará devidamente amparado durante todo o desenvolvimento da pesquisa.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

ATodos os termos de apresentação foram anexados

Endereço: Campus Universitário Ministro Petronio Portella - Pró-Reitoria de Pesquisa
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: 1.848.088

Declaração de Pesquisadores	Declaracao_Pesquisadores.pdf	09/11/2016 15:57:19	Dilina do Nascimento Marreiro	Aceito
Folha de Rosto	Folha_Rosto.pdf	09/11/2016 15:55:35	Dilina do Nascimento Marreiro	Aceito
Cronograma	Cronograma.pdf	09/11/2016 15:55:10	Dilina do Nascimento Marreiro	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	Termo_de_consetimento.docx	09/11/2016 15:49:00	Dilina do Nascimento Marreiro	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

TERESINA, 03 de Dezembro de 2016

Assinado por:
Lúcia de Fátima Almeida de Deus Moura
(Coordenador)