



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ  
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
PROGRAMA DE MESTRADO EM CIÊNCIAS E SAÚDE

FLÁVIA ENNES DOURADO FERRO

**ZINCÊMIA, ATIVIDADE DAS ENZIMAS SUPERÓXIDO DISMUTASE E  
GLUTATIONA PEROXIDASE E SUA RELAÇÃO COM PARÂMETROS DA  
SÍNDROME METABÓLICA EM MULHERES OBESAS**

TERESINA

2010

FLÁVIA ENNES DOURADO FERRO

**ZINCEMIA, ATIVIDADE DAS ENZIMAS SUPERÓXIDO DISMUTASE E  
GLUTATIONA PEROXIDASE E SUA RELAÇÃO COM PARÂMETROS DA  
SÍNDROME METABÓLICA EM MULHERES OBESAS**

Dissertação apresentada ao Centro de  
Ciências e Saúde da Universidade  
Federal do Piauí para a obtenção do título  
Mestre em Ciências e Saúde

Orientadora:  
Prof<sup>a</sup> Dra Dilina do Nascimento Marreiro.

TERESINA

2010

FLÁVIA ENNES DOURADO FERRO

ZINCEMIA, ATIVIDADE DAS ENZIMAS SUPERÓXIDO DISMUTASE E GLUTATIONA PEROXIDASE E SUA RELAÇÃO COM PARÂMETROS DA SÍNDROME METABÓLICA EM MULHERES OBESAS

Dissertação apresentada ao Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Piauí para a obtenção do título de Mestre em Ciências e Saúde.

Aprovado por:

---

Presidente - Profª Dra. Dilina do Nascimento Marreiro (orientadora)

---

1º Examinador – Profº Dr. Antônio Carlos Lerario

---

2º Examinador – Profª Dra Nadir do Nascimento Nogueira

Teresina, \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 2010.

## **AGRADECIMENTOS**

À Deus , pela vida, força, amor e presença em todas as etapas da minha vida.

A Orientadora Prof<sup>a</sup> Dra. Dilina do Nascimento Marreiro, pelo comprometimento, profissionalismo e paciência em me orientar neste trabalho.

Às mulheres que participaram desse estudo, pela confiança, disponibilidade e envolvimento nas diversas atividades da pesquisa.

À amiga Nina Rosa pelo companheirismo, dedicação e apoio em todas as etapas do trabalho.

À Vanessa, Danila, Liliane e Kaluce pelo empenho, compreensão e ajuda inestimável nas análises dos dados.

Ao laboratório MedImagem e do Hospital São Carlos Borromeu, por seu apoio.

Aos bioquímicos Francisco Erasmo de Oliveira, Lucas, Ismânia Maria Ramalho e Judite Francisca do Nascimento

Às técnicas de enfermagem, funcionárias da recepção e do setor de coleta de sangue do Hospital São Carlos Borromeu e do Ambulatório da FACID.

À Faculdade Integral Diferencial pelo apoio e instalações físicas.

Ao professor José Machado Moita Neto pela contribuição na análise e interpretação dos dados estatísticos.

Aos companheiros do Laboratório de Nutrição Experimental da UFPI, Moisés, Fabiane, Gilmara, Camila.

Aos meus pais, Ana e Eurípedes, meu irmão, sogros, cunhados e tios pelas orações, amor, incentivo, cuidado e apoio.

Ao meu marido Leonardo pelo amor, compreensão, incentivo e companheirismo. E a minha filha Mariana, principal motivo de alegria e força.

Enfim, a todos que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho.

## RESUMO

**FERRO, F.E.D. Zincemia, atividade das enzimas superóxido dismutase e glutationala peroxidase e sua relação com parâmetros da síndrome metabólica em mulheres obesas.** 2010. Dissertação (mestrado) – Programa de Mestrado em Ciências e Saúde, Universidade Federal do Piauí, Teresina-PI.

**INTRODUÇÃO:** Estudos têm demonstrado a existência de alterações na defesa antioxidante em indivíduos obesos, que podem contribuir para o estresse oxidativo, principalmente naqueles pacientes que possuem síndrome metabólica. No entanto, dados de avaliação da atividade de enzimas e de minerais antioxidantes, bem como a relação destes parâmetros com componentes da síndrome metabólica ainda são bastante escassos. Portanto, esse estudo determinou a zincemia e a atividade das enzimas superóxido dismutase e glutationala peroxidase, bem como investigou a existência de correlação entre estas variáveis em mulheres obesas. **MÉTODOS:** Estudo de natureza transversal, analítico, caso controle, envolvendo 73 mulheres na faixa etária de 20 a 50 anos. As pacientes foram distribuídas em 2 grupos: controle (eutróficas, n=36) e estudo (obesas, n=37). A ingestão de zinco foi avaliada utilizando o registro alimentar de três dias e a análise pelo software Nutwin versão 1,5. A análise da concentração de zinco plasmático e eritrocitário foi realizada segundo o método de espectrofotometria de absorção atômica de chama. A determinação das enzimas superóxido dismutase e glutationala peroxidase foi realizada nos eritrócitos segundo metodologia recomendada pelo fabricante Randox. As determinações de insulina e glicose de jejum foram realizadas por radioimunoensaio e colorimétrico, respectivamente. O perfil lipídico foi determinado segundo o método enzimático. **RESULTADOS:** A ingestão de zinco pelas mulheres obesas foi superior ao grupo controle ( $p < 0,05$ ). A média das concentrações plasmáticas de zinco foi de  $72,2 \pm 9,0 \mu\text{g/dL}$  para as obesas e de  $73,4 \pm 8,5 \mu\text{g/dL}$  para o grupo controle ( $p > 0,05$ ). Os valores médios e desvios padrão do zinco eritrocitário foram de  $36,4 \pm 15,0 \mu\text{gZn/gHb}$  e  $45,4 \pm 14,3 \mu\text{gZn/gHb}$  para mulheres obesas e controles, respectivamente ( $p < 0,05$ ). Os valores médios da atividade da enzima superóxido dismutase nas mulheres obesas foram de  $1816,0 \pm 680,4 \text{ U/gHb}$  e no grupo controle de  $1786,8 \pm 490,7 \text{ U/gHb}$ . A determinação da glutationala peroxidase mostrou valores médios e desvios padrão de  $46,4 \pm 19,4 \text{ U/gHb}$  para as mulheres obesas e de  $36,7 \pm 13,6 \text{ U/gHb}$  para o grupo controle ( $p < 0,05$ ). Na análise de regressão multivariada, apenas a relação entre a atividade da enzima superóxido dismutase e a glicose plasmática ( $r = -0,50$ ), circunferência da cintura ( $r = -0,65$ ) e o índice de massa corpórea ( $r = -0,63$ ) foi significativa. **CONCLUSÕES:** As mulheres obesas avaliadas neste estudo apresentam concentrações de zinco nos eritrócitos inferiores ao grupo controle ( $p < 0,05$ ). Além disso, a análise de regressão multivariada para investigar a influência dos componentes da síndrome metabólica sobre os antioxidantes revela significância estatística apenas em relação à superóxido dismutase, sendo que esta enzima possui correlação negativa com a glicose plasmática, circunferência da cintura e índice de massa corpórea.

**Palavras-Chave:** obesidade, zinco, superóxido dismutase, glutationala peroxidase, síndrome metabólica

## ABSTRACT

**FERRO, F.E.D. Zincemia, atividade das enzimas superóxido dismutase e glutationala peroxidase e sua relação com parâmetros da síndrome metabólica em mulheres obesas.** 2010. Dissertação (mestrado) – Programa de Mestrado em Ciências e Saúde, Universidade Federal do Piauí, Teresina-PI.

**INTRODUÇÃO:** Studies have shown the existence of alterations in the antioxidant defense of obese individuals, which may contribute to oxidative stress, especially in patients with metabolic syndrome. However, there is hardly any data available that assess the activity of antioxidant enzymes and minerals, as well as the relationship between these parameters with components of metabolic syndrome. Therefore, this study measured zincemia and the activity of superoxide dismutase and glutathione peroxidase, and investigated the correlation between these variables in obese women. **METHODS:** This was a cross sectional, analytical, case control study, involving 73 women aged 20 to 50 years. The patients were divided into two groups: control (normal weight, n = 36) and study (obese, n = 37). Zinc intake was assessed using the three-day food record and analyzed using NutWin software version 1.5. Plasmatic and erythrocytary zinc concentration was analyzed by flame atomic absorption spectrophotometry. The measurements of superoxide dismutase and glutathione peroxidase in the erythrocytes were carried out according to the manufacturer's methodology (Randox). Insulin and glucose fasting levels were measured using the radioimmunoassay and colorimetric method, respectively. The lipid profile was measured according to the colorimetric method.

**RESULTS:** The zinc intake for obese women was higher than the control group ( $p < 0.05$ ). The mean plasma zinc was  $72.2 \pm 9.0 \mu\text{g/dL}$  for the obese group and  $73.4 \pm 8.5 \mu\text{g/dL}$  for the control group ( $p > 0.05$ ). The mean values and standard deviations for the erythrocyte zinc were  $36.4 \pm 15.0 \mu\text{gZn/gHb}$  and  $45.4 \pm 14.3 \mu\text{gZn/gHb}$  for obese women and controls, respectively ( $p < 0.05$ ). The mean values of superoxide dismutase activity were  $1816.0 \pm 680.4 \text{ U/gHb}$  in obese females and  $1786.8 \pm 490.7 \text{ U / gHb}$  for the control group. The mean values and standard deviations for glutathione peroxidase activity were  $46.4 \pm 19.4 \text{ U/gHb}$  for obese women and  $36.7 \pm 13.6 \text{ U / gHb}$  for the control group ( $p < 0.05$ ). In the multivariate regression analysis, only the associations between the activity of superoxide dismutase and plasma glucose, waist circumference and body mass index were significant.

**CONCLUSIONS:** The obese women that were assessed in this study had lower concentrations of erythrocytary zinc when compared with the control group ( $p < 0.05$ ). In addition, the multivariate regression analysis to investigate the influence of metabolic syndrome components on antioxidants only reveals a statistical significance regarding superoxide dismutase, and this enzyme has a negative correlation with plasma glucose, waist circumference and body mass index.

**Key-words:** obesity, zinc, superoxide dismutase, glutathione, peroxidase, metabolic syndrome.

## LISTA DE ABREVIATURAS

**DRIs**- Dietary References Intakes

**EAR** - Estimated Average Requirement

**IL-6**-Interleucina 6

**IL-8**- Interleucina 8

**IRS- 1**- Receptor de insulina 1

**IMC** - Índice de Massa Corpórea

**HOMA** - Homeostasis Model Assessement

**NCEP- ATP III** - National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III

**PAI-1**- Fator Ativador de Plasminogênio 1

**TACO**- Tabela Brasileira de Composição de Alimentos

**TNF- $\alpha$**  - Fator de Necrose Tumoral  $\alpha$

**WHO**- World Health Organization

**ZIP** - Zrt- and Irt-like proteins

**ZnT** - Zinc Transporter

**11 $\beta$ HSD-1** - 11-beta-hidroxiesteróide desidrogenase do tipo 1



## LISTA DE TABELAS

- Tabela 01:** Valores médios e desvios padrão do peso, altura, índice de massa corpórea, circunferência da cintura, percentual de gordura, massa magra, massa gorda das obesas e grupo controle ..... 42
- Tabela 02:** Valores médios e desvios padrão do zinco, macronutrientes e energia presentes na alimentação das mulheres obesas e grupo controle.....43
- Tabela 03:** Valores médios e desvios padrão das concentrações plasmáticas e eritrocitárias de zinco das mulheres obesas e grupo controle.....44
- Tabela 04:** Valores médios e desvios padrão das concentrações eritrocitárias de superóxido dismutase e glutathione peroxidase das mulheres obesas e grupo controle.....45
- Tabela 05:** Valores médios e desvios padrão da pressão arterial, colesterol total, colesterol HDL, colesterol LDL, triglicérideo, glicose, insulina, HOMA<sub>ir</sub>.....46
- Tabela 06:** Correlação entre o zinco plasmático e eritrocitário e a atividade da enzima superóxido dismutase.....47
- Tabela 07:** Análise de regressão multivariada dos parâmetros da síndrome metabólica, do zinco e da atividade das enzimas superóxido dismutase e glutathione peroxidase nas mulheres obesas.....48
- Tabela 08:** Valores médios e desvios padrão das concentrações plasmáticas e eritrocitárias de zinco e atividade das enzimas superóxido dismutase e glutathione peroxidase em mulheres obesas com e sem a síndrome metabólica.....49

## SUMÁRIO

<b>1.0 INTRODUÇÃO.....</b>	<b>12</b>
<b>2.0 REVISÃO DA LITERATURA .....</b>	<b>15</b>
<b>2.1 Aspectos fisiológicos do zinco.....</b>	<b>15</b>
<b>2.2 Aspectos metabólicos do zinco.....</b>	<b>16</b>
<b>2.3 Zinco e obesidade.....</b>	<b>18</b>
<b>2.4 Obesidade, estresse oxidativo e sistema de defesa antioxidante.....</b>	<b>20</b>
<b>2.5 Obesidade, síndrome metabólica e estresse oxidativo.....</b>	<b>23</b>
<b>3.0 OBJETIVOS.....</b>	<b>27</b>
<b>3.1 Objetivo Geral.....</b>	<b>27</b>
<b>3.2 Objetivos Específicos.....</b>	<b>27</b>
<b>4.0 CASUÍSTICA E MÉTODOS.....</b>	<b>29</b>
<b>4.1 Caracterização do estudo e protocolo experimental.....</b>	<b>29</b>
<b>4.2 Avaliação do estado nutricional.....</b>	<b>30</b>
4.2.1 Parâmetros antropométricos.....	30
<b>4.3 Avaliação da composição corporal.....</b>	<b>32</b>
4.3.1 Impedância bioelétrica.....	32
<b>4.4 Determinação do zinco na dieta.....</b>	<b>33</b>
<b>4.5 Coleta de material biológico.....</b>	<b>33</b>
<b>4.6 Parâmetros bioquímicos de determinação do zinco.....</b>	<b>34</b>
4.6.1 Controle de contaminação.....	34
4.6.2 Reagentes.....	34
4.6.3 Separação dos componentes do sangue.....	35
4.6.4 Determinação do zinco no plasma.....	35
4.6.5 Determinação de zinco nos eritrócitos.....	36

<b>4.7 Determinação da atividade das enzimas superóxido dismutase e glutationala peroxidase nos eritrócitos.....</b>	<b>37</b>
<b>4.8 Avaliação da síndrome metabólica.....</b>	<b>38</b>
<b>4.9 Caracterização da resistência insulínica.....</b>	<b>39</b>
<b>4.10 Análise estatística.....</b>	<b>40</b>
<b>4.11 Aspectos éticos.....</b>	<b>40</b>
<b>5.0 RESULTADOS.....</b>	<b>42</b>
<b>5.1 Avaliação do estado nutricional e composição corporal das participantes do estudo.....</b>	<b>42</b>
<b>5.2 Avaliação do consumo alimentar.....</b>	<b>43</b>
<b>5.3 Parâmetros bioquímicos de avaliação do zinco.....</b>	<b>43</b>
<b>5.4 Concentrações séricas das enzimas superóxido dismutase e glutationala peroxidase.....</b>	<b>44</b>
<b>5.5 Marcadores da síndrome metabólica dos participantes do estudo.....</b>	<b>45</b>
<b>5.6 Correlações entre as concentrações do zinco e a atividade da enzima superóxido dismutase.....</b>	<b>46</b>
<b>5.7 Análise de regressão multivariada entre o zinco eritrocitário, a atividade das enzimas superóxido dismutase e glutationala peroxidase e os parâmetros da síndrome metabólica nas mulheres obesas.....</b>	<b>47</b>
<b>5.8 Parâmetros bioquímicos do zinco e atividade das enzimas superóxido dismutase e glutationala peroxidase nas mulheres obesas com e sem síndrome metabólica.....</b>	<b>49</b>
<b>6.0 DISCUSSÃO.....</b>	<b>51</b>
<b>7.0 CONCLUSÕES.....</b>	<b>56</b>
<b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>57</b>
<b>APENDICES.....</b>	<b>67</b>
<b>A-FICHA DE CADASTRAMENTO DO PACIENTE.....</b>	<b>68</b>
<b>B-REGISTRO ALIMENTAR.....</b>	<b>70</b>
<b>C-TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO.....</b>	<b>71</b>
<b>ANEXOS.....</b>	<b>75</b>

## 1.0 INTRODUÇÃO

---

## 1.0 INTRODUÇÃO

A obesidade é uma doença crônica normalmente associada ao aumento do estresse oxidativo e a manifestação de danos no metabolismo de lipídios, proteínas, DNA e alterações na função celular. A peroxidação lipídica ou proteínas oxidativas, demonstrada em pacientes obesos, normalmente tem sido associada a vários índices de adiposidade (VINCENT; INNES; VINCENT, 2007).

A literatura tem demonstrado a produção de alguns hormônios e moléculas de sinalização no tecido adiposo, que o caracteriza como um órgão endócrino. A maioria das pesquisas realizadas identificou aumento da secreção da leptina, interleucina-6 (IL-6), interleucina-8 (IL-8), e fator de necrose tumoral  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) nesse tecido. Estas adipocitocinas, comumente elevadas em pacientes obesos, possuem função inflamatória e interagem elevando a produção de radicais livres (ALVES, 2006). A inflamação crônica de baixa intensidade presente na obesidade está relacionada à resistência à insulina e a outros fatores que influenciam a manifestação da síndrome metabólica (SOLÁ et al., 2008; VOLP et al., 2008).

Nos anos recentes, percebe-se um crescente interesse no que diz respeito às desordens hormonais, bioquímicas e nutricionais presentes em indivíduos obesos. Estudos têm procurado elucidar os mecanismos envolvidos na fisiopatologia de doenças associadas a esta condição, assim como os fatores contribuintes para o seu desenvolvimento e tratamento.

Em relação às desordens bioquímicas e nutricionais, já foi demonstrada alteração no metabolismo de minerais e na atividade de enzimas antioxidantes como, por exemplo, a superóxido dismutase e glutathione peroxidase, bem como aumento na produção de espécies reativas de oxigênio em pacientes obesos que apresentam síndrome metabólica, sendo que estas alterações são importantes para a ocorrência do estresse oxidativo na obesidade (OZATA et al., 2002; VAN GUILDER et al., 2006; AARON et al., 2006).

Nesse aspecto, algumas pesquisas têm mostrado que as concentrações de zinco no plasma, eritrócitos e no soro de indivíduos obesos estão diminuídas e que a suplementação com este oligoelemento melhora as suas funções fisiológicas (MARREIRO et al., 2006). Este mineral atua como cofator de enzimas que

participam do sistema de defesa antioxidante, contribuindo na estabilidade de membranas (BRAY; BETTGER, 1990; PRASAD et al., 2004).

Alguns estudos também evidenciam redução na atividade das enzimas superóxido dismutase e glutathiona peroxidase em pacientes obesos, sendo esta normalmente associada ao aumento das espécies reativas de oxigênio encontrado nestes indivíduos (OLUZI et al., 2002; VIROONUDOMPHOL, 2000; VINCENT; INNES; VINCENT, 2007). A superóxido dismutase é a primeira enzima envolvida na destruição do ânion superóxido, podendo ser rapidamente induzida pela exposição ao estresse oxidativo (COUSINS et al., 1985) e a glutathiona peroxidase reduz o peróxido de hidrogênio e a peroxidação lipídica (VINCENT; INNES; VINCENT, 2007).

Nessa perspectiva, vale destacar que o aumento da produção de espécies reativas de oxigênio em pacientes obesos que apresentam síndrome metabólica parece ser decorrente de distúrbios associados à síndrome como, por exemplo, a hiperglicemia, dislipidemias e resistência à insulina, sendo estes considerados importantes fatores contribuintes para a manifestação da peroxidação lipídica nestes pacientes (OZATA et al., 2002).

Embora trabalhos na literatura já tenham demonstrado alterações no metabolismo do zinco em pacientes obesos, dados de avaliação da atividade de enzimas antioxidantes ainda são bastante escassos, particularmente em pacientes obesos que apresentam síndrome metabólica. Dessa forma, a determinação das concentrações do zinco e da atividade das enzimas superóxido dismutase e glutathiona peroxidase, bem como a sua relação com os marcadores da síndrome metabólica, pode favorecer o entendimento acerca da participação de antioxidantes em distúrbios presentes na obesidade que estejam relacionadas ao aumento da produção de espécies reativas de oxigênio.

## **2.0 REVISÃO DA LITERATURA**

---

## 2.0 REVISÃO DA LITERATURA

### 2.1 Aspectos fisiológicos do zinco

O zinco é um elemento encontrado em mais de 300 enzimas necessárias em processos metabólicos essenciais, desempenhando funções estruturais, enzimáticas e reguladoras (MAFRA; COZZOLINO, 2004; MEUNIER et al., 2005). Este mineral participa da síntese e degradação de carboidratos, lipídeos e proteínas, na manutenção do crescimento e do desenvolvimento normais, na função do sistema imune, na defesa antioxidante, e na transcrição e tradução de polinucleotídeos (SALGUEIRO et al., 2000). O zinco também estimula a atividade do receptor de insulina tirosina quinase, influenciando a captação de glicose pela célula (COULSTON; DANDONA, 1980; MARREIRO et al., 2004; MARREIRO et al., 2006).

A anidrase carbônica, proteína C quinase, fosfatase alcalina, carboxipeptidases, álcool desidrogenase, superóxido dismutase e transcriptase reversa são enzimas que dependem do zinco como cofator (MAFRA; COZZOLINO, 2004). Dessa forma, necessitam da coordenação de um ou mais átomos deste elemento, podendo ser classificados como fatores catalítico, co-catalítico ou estrutural (VALLEE; AULD, 1993).

O zinco possui papel antioxidante atuando na regulação da síntese da metalotioneína, além de contribuir na estabilização de membranas estruturais e na proteção celular, prevenindo a peroxidação lipídica (MARET, 2000). O papel fisiológico do zinco como antioxidante é evidenciado, fundamentalmente, por dois mecanismos: proteção dos grupos sulfidrilas contra oxidação e inibição da produção de espécies reativas de oxigênio, por metais de transição, reforçando seu papel como estabilizador da membrana plasmática, de outras membranas e organelas encapsuladas (BRAY; BETTGER, 1990).

Neste aspecto, pesquisas realizadas *in vivo* têm demonstrado que a deficiência de zinco promove lesões oxidativas relacionadas à ação de espécies reativas de oxigênio tanto em animais quanto em humanos (POWELL, 2000). No entanto, o papel do zinco como antioxidante ainda não foi totalmente elucidado, apesar das evidências disponíveis incluir a sua ação em diversos mecanismos.



## 2.2 Aspectos metabólicos do zinco

Quanto à absorção do zinco em humanos, o jejuno é a porção do intestino onde ocorre a maior parte de sua absorção (LEE et al., 1989). Este processo ocorre na superfície da borda em escova do enterócito por meio de mecanismo de difusão passiva e por processo mediados por carregadores (SALGUEIRO et al., 2000). O mecanismo mediado por carregador predomina em situação de baixa concentração de zinco na dieta, enquanto que a absorção por difusão simples é predominante quando a concentração desse mineral está elevada (COUSINS; McMAHON, 2000; SALGUEIRO et al., 2000).

Dentro das células intestinais, o zinco liga-se a metalotioneína e às proteínas intestinais ricas em cisteína (HENRIQUES; HIRATA; COZZOLINO, 2003). Quando em estado de elevada concentração de zinco no organismo, esse mineral permanece ligado à metalotioneína, sendo em seguida excretado nas fezes, juntamente com as células intestinais descamadas. Por outro lado, na sua deficiência, o zinco é transferido a proteínas intestinais ricas em cisteína sendo então transportado para a corrente sanguínea. Dessa forma, a metalotioneína regula a ligação do zinco para a proteína intersticial rica em cisteína (GUTHERIE; PICCIANO, 1994; MAFRA; COZZOLINO, 2004).

A metalotioneína funciona como moderador da liberação de zinco e sua expressão gênica é estimulada por hormônios, como por exemplo, os glicocorticóides e pela ingestão alimentar de zinco (KING; SHAMES; WOODHOUSE, 2000). Quando existe aumento da concentração de zinco, ocorre indução da síntese de tioneína, por meio de sua ação sobre fatores de transcrição zinco-dependente, formando a metalotioneína. Por outro lado, em situações de baixa disponibilidade, o zinco, é liberado da metalotioneína, sendo incorporado a outras proteínas (DUFNER-BEATTIE et al., 2003; MARET, 2000).

Atualmente duas famílias de genes que participam do transporte de zinco têm sido identificadas: SLC30A e SLC39A, sendo conhecidas como transportadores ZnT (Zinc Transporter) e Zip (Zrt- and Irt-like proteins), respectivamente. As proteínas da família Zip transportam o zinco extracelular ou de vesículas intracelulares para o citoplasma e as da família ZnT controlam a rota contrária deste transporte (COUSINS; LUIZZI; LICHTEN, 2006; DERVIRGILIIS et al., 2007).

Genes envolvidos na síntese de proteínas e que participam do transporte de zinco foram clonadas. O gene do transportador ZnT-1 foi o primeiro a ser clonado e sua expressão é maior no duodeno e jejuno (McMAHON; COUSINS, 1998; SEKLER et al., 2007). Este transportador é encontrado em todos os tecidos, sendo que nos eritrócitos e nas células tubulares renais localizam-se, predominantemente, na membrana basolateral, na qual regula respectivamente a absorção e a reabsorção de zinco (PALMITER; FINDLEY, 1995).

Existem ainda o ZnT-2 presente no intestino, rins e testículos, ZnT-3 localizado principalmente no cérebro e nas membranas de vesículas sinápticas ricas em zinco e o ZnT-4 no cérebro e nas glândulas mamárias, podendo estar envolvido na secreção de zinco no leite (McMAHON; COUSINS, 1998; SEVE et al., 2004). O ZnT-5 é um transportador ubíquo localizado em vesículas intracelulares não acidotrópicas, e expresso abundantemente nas células pancreáticas  $\beta$ . O ZnT-8 também é expresso nas células pancreáticas  $\beta$  (OVERBECK et al., 2008; SMIDT et al., 2007).

Após a absorção e liberação das células intestinais pela membrana basolateral, por meio dos transportadores, o zinco passa para os capilares mesentéricos e é transportado no sangue portal, sendo captado pelo fígado e, subseqüentemente, distribuído para outros tecidos (COUSINS, 1985). No plasma, o zinco é carregado ligado a proteínas, como a albumina,  $\alpha_2$  macroglobulina e aminoácidos, especialmente a histidina e a cistina. A excreção de zinco ocorre primariamente pelo trato gastrointestinal (COUSINS, 1998; MARREIRO et al. 2007).

A concentração de zinco no plasma, que representa 0,1% do conteúdo corporal, é a fonte primária deste mineral para todas as células. Este compartimento é mantido sob controle homeostático, e fatores como estresse, infecção, catabolismo, hormônios e ingestão alimentar estão envolvidos nas flutuações de zinco plasmático (BROW, 1998; HAMBIDGE, 2003). Já a concentração de zinco nos eritrócitos reflete alterações a médio e longo prazos nos estoques desse mineral no organismo, e a variação indicada é devida à meia vida mais longa dessas células (SANTOS; SARDINHA; COLLI, 2005).

O conteúdo total de zinco no adulto humano é de cerca de 2,0g, sendo que 80% estão distribuídos nos ossos, músculos, fígado e pele, sendo também encontrado no pâncreas, próstata, olhos, cabelo e nas unhas. No sangue, cerca de 80% está nos eritrócitos e 16% no plasma (YUYAMA et al., 2009).

A recomendação atual de zinco varia de 6,8 a 8,5 mg/dia, segundo a EAR (Estimated Average Requirement) contida nas DRIs- Dietary Reference Intakes – que reflete a quantidade do mineral suficiente para atingir as necessidades nutricionais de metade dos indivíduos saudáveis de determinado gênero e estágio de vida, sendo que o nível máximo de ingestão tolerável (UL) do mineral é de 40mg/dia (INSTITUTE OF MEDICINE/FOOD AND NUTRITION BOARD, 2001).

### **2.3 Zinco e obesidade**

Atualmente tem havido um crescente interesse sobre as alterações hormonais, bioquímicas e nutricionais presentes em indivíduos obesos. Neste aspecto, a participação do zinco está sendo destacada. Atkinson et al. já em 1978, observaram concentrações de zinco plasmático reduzidas em obesos, quando comparadas ao grupo controle. Chen et al. (1988) verificaram que a concentração de zinco no soro e cabelo de indivíduos obesos e com sobrepeso era inversamente correlacionada ao índice de massa corpórea.

No estudo de Kennedy e Failla (1987), conduzido em experimento com ratos obesos (ob/ob) e ratos magros C57BL, foi demonstrada baixa concentração de zinco na pele, no músculo, no osso e no pâncreas de camundongos obesos. Por outro lado, o fígado, o intestino e o tecido adiposo apresentam maiores concentrações deste oligoelemento, sugerindo possível alteração na sua distribuição em indivíduos obesos.

Perrone et al. (1998) verificaram baixas concentrações de zinco no soro de crianças e adolescentes obesos, quando comparados ao grupo controle, mas em relação ao eritrócito e cabelo, não foi encontrada diferença estatística significativa.

As alterações na distribuição do zinco na obesidade podem ser decorrentes da ligação deste mineral à metalotioneína em tecidos específicos, cuja síntese é estimulada por alguns hormônios, como por exemplo, os glicocorticóides (KENNEDY; FAILLA, 1987). Em camundongos obesos, a concentração desses hormônios normalmente apresenta-se elevada, o que manteria níveis elevados de metalotioneína ligada ao zinco, “seqüestrando” esse mineral em tecidos específicos (BEGIN-HEICK et al., 1985).

De acordo com Lordelo et al. (2007), embora as concentrações de cortisol circulante possam estar normais em pessoas obesas, a sua secreção encontra-se aumentada em pacientes com distribuição de gordura visceral. Assim, a elevada expressão gênica de metalotioneína no tecido adiposo visceral parece estar associada ao aumento do cortisol ativo neste tecido (KIM et al., 2006).

O aumento da atividade de glicocorticóide na gordura abdominal é devido a maior atividade da enzima 11-beta-hidroxiesteróide desidrogenase do tipo 1 (11 $\beta$ HSD-1), que catalisa a interconversão de cortisona para cortisol na célula-alvo (LORDELO et al., 2007). Rask et al. (2001) avaliaram homens saudáveis submetidos a biópsia de tecido adiposo subcutâneo abdominal e verificaram que quanto maior o índice de massa corpórea, maior a atividade da enzima.

Di Martino et al. (1993) avaliaram a concentração de zinco no soro de 40 indivíduos obesos antes e após 60 dias de tratamento sob intervenção com dieta hipocalórica (737kcal/dia) e observaram que a concentração de zinco após o tratamento aumentou no soro. A hipótese dos autores é que em indivíduos obesos o zinco possivelmente está aumentado no tecido adiposo e, durante a dieta hipocalórica, a sua mobilização resulta em aumento do mineral no soro.

Marreiro; Fisberg; Cozzolino (2002) estudando crianças e adolescentes obesos observaram que estes possuíam reduzidas concentrações de zinco no plasma e nos eritrócitos. Segundo os autores, a baixa concentração de zinco plasmático no grupo de obesos poderia estar associada a alteração no metabolismo do zinco, resultante de distribuição anormal desse mineral no organismo.

Pires et al. (2007) verificaram redução nas concentrações plasmáticas de zinco e aumento do mineral nos eritrócitos em 22 mulheres obesas após seis meses da cirurgia bariátrica, o que caracteriza alterações na distribuição deste mineral na obesidade.

A baixa concentração de zinco no plasma de indivíduos obesos parece estar relacionada à hiperinsulinemia e a resistência à insulina geralmente encontrada nestes pacientes (CHEN et al., 1988). A resistência à insulina na obesidade é manifestada pela redução do transporte e do metabolismo da glicose, bem como pelo aumento da liberação da glicose hepática. Essas alterações funcionais podem resultar, em parte, de alterações nas vias de transmissão do sinal da insulina (MARREIRO et al., 2004).

A terapia com zinco promove aumento da lipogênese, sugerindo que esta esteja relacionada com a sua função sobre a ação da insulina no tecido adiposo (CHEN et al., 1988). Neste sentido, o zinco pode ter participação, estimulando a atividade do receptor de insulina tirosina quinase, que, posteriormente, por meio do estímulo pós-receptor, parece aumentar a translocação dos transportadores de glicose dos seus sítios intracelulares para a membrana plasmática (MARREIRO et al., 2004).

Araky et al. (1991) demonstraram que o zinco pode modular a transcrição do receptor de insulina por meio das proteínas dedos de zinco, que contém três dedos de zinco necessários para sua ligação. Os sítios dessas proteínas são necessários para ativar a expressão do receptor de insulina.

Uma outra hipótese sobre a influencia do zinco no metabolismo periférico da glicose estaria relacionada ao papel deste nutriente como antioxidante biológico. O aumento da peroxidação lipídica, comum em indivíduos diabéticos, seria atribuído à redução da atividade da superóxido dismutase, dependente de zinco, o que favoreceria o aparecimento de alterações na fluidez da membrana e na ação da insulina sobre o transporte de glicose (FAURE et al., 1992).

A participação do zinco no metabolismo de lipídios no tecido adiposo está relacionada à redução da atividade da enzima dependente de zinco gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase que participa na conversão do gliceraldeído-3-fosfato em piruvato. O gliceraldeído-3-fosfato é um intermediário comum na oxidação de glicose e triacilgliceróis. A redução da atividade desta enzima na deficiência de zinco leva a maior utilização desse intermediário para a produção de triacilglicerol no tecido adiposo (COLLIPP, 1984, COMINETTI; MARREIRO; COZZOLINO, 2009).

#### **2.4 Obesidade, estresse oxidativo e sistema de defesa antioxidante**

O aparecimento da peroxidação lipídica na obesidade tem sido atribuído a redução do consumo de alimentos antioxidantes, baixas concentrações plasmáticas de minerais como o zinco, selênio e magnésio e a redução de enzimas antioxidantes, como a superóxido dismutase e a glutatona peroxidase (VINCENT; INNES; VINCENT, 2007).

Nas últimas décadas, vários estudos têm demonstrado a contribuição da inflamação para a manifestação do aumento de espécies reativas de oxigênio em pacientes obesos. Os macrófagos presentes em tecido adiposo são importantes fontes de citocinas inflamatórias, particularmente o tecido subcutâneo e visceral (WEISBERG et al., 2003). O aumento deste tecido está associado a maior expressão do TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-8, leptina, inibidor do fator ativador de plasminogênio 1 (PAI-1), e diminuição da expressão de adiponectina (ALVES, 2006; CARVALHO; COLAÇO; FORTES, 2006; VOLP et al., 2008).

A associação entre inflamação e obesidade foi demonstrada a partir de estudos que identificaram elevada expressão da citocina pró-inflamatória TNF- $\alpha$  em pacientes obesos (CARVALHO; COLAÇO; FORTES, 2006). Pesquisas realizadas posteriormente têm confirmado que a obesidade é um estado de inflamação crônica (VINCENT; INNES; VINCENT, 2007).

O tecido adiposo ao estimular a produção de macrófagos e citocinas, como a IL-8 e TNF- $\alpha$ , aumenta a respiração celular e a produção de espécies reativas de oxigênio, como o ânion superóxido, peróxido de hidrogênio, hidroxila e óxido nítrico (SIQUEIRA JR, 2000). Estes radicais oxigenados, em desequilíbrio com as defesas antioxidantes do organismo, promovem o estado de estresse oxidativo (RODRIGUES et al., 2003), sendo este considerado um dos mecanismos envolvidos na resistência à insulina, no diabetes tipo 2 e nas doenças cardiovasculares, o que explica a presença da inflamação em todas essas condições (VAN GAAL et al., 2006).

A produção de espécies reativas de oxigênio normalmente está associada às alterações metabólicas relacionadas à obesidade, como a hiperglicemia (PARK; CHUNG; KIM, 2007), que favorece a geração de superóxido, por meio da ativação da NADPH oxidase (BROWNLEE, 2001).

As enzimas regulatórias do sistema redox, como a óxido nítrico sintase e a NADPH oxidase, estão elevadas no tecido adiposo de pacientes obesos. A enzima óxido nítrico sintase produz óxido nítrico, e seu aumento no obeso está relacionado à manifestação da resistência à insulina (FURUKAWA et al., 2004). A NADPH oxidase participa da formação do radical superóxido (PRASAD et al., 2004). A participação da óxido nítrico sintase e da NADPH oxidase na produção de espécies reativas de oxigênio, requer a utilização de NADPH como cofator, substrato também

com elevada concentração no tecido adiposo de obesos (PARK; CHUNG; KIM, 2007).

A disfunção mitocondrial também parece estar relacionada aos distúrbios do estresse oxidativo, incluindo complicações vasculares do diabetes e doenças neurodegenerativas (HUANG; MANTON, 2004). No entanto, ainda é desconhecida a participação da disfunção mitocondrial no tecido adiposo sobre o aparecimento de doenças metabólicas relacionadas à obesidade (PARK; CHUNG; KIM, 2007).

Por outro lado, o tecido adiposo secreta a metalotioneína, proteína que desempenha papel antioxidante, ao proteger os ácidos graxos do estresse oxidativo nos adipócitos e durante o transporte destes na microcirculação (DO et al., 2002; TRAYHURN et al., 2000). Além do zinco, outros estímulos como a inflamação, o estresse e os glicocorticóides podem induzir a expressão gênica desta proteína (DAVIS; COUSINS, 2000; SATO; KONDOH, 2002).

Diversas alterações na defesa antioxidante foram observadas em animais obesos. A atividade da enzima glutatona peroxidase, bem como a glutatona redutase estão reduzidas em ratos ob/ob (CAPEL; DOREL, 1984). Prohaska et al. (1988) identificaram redução de 70% na atividade da glutatona peroxidase e de 30% na superóxido dismutase em camundongos obesos. De forma semelhante, Olusi (2002) e Ozata et al. (2002) também verificaram redução na atividade da superóxido dismutase e glutatona peroxidase em pacientes obesos.

Nesse aspecto, o zinco parece possuir importante função antioxidante em pacientes obesos, já que inibe a enzima NADPH oxidase, é cofator da enzima superóxido dismutase, aumenta a metalotioneína e ainda compete com o ferro e cobre na membrana celular diminuindo a produção de hidroxilas (PRASAD, 1998; PRASAD et al., 2004).

Na perspectiva de avaliar a função antioxidante do zinco, Prasad et al. (2004) suplementaram 10 voluntários saudáveis com o mineral e compararam com um grupo controle. Os indivíduos que receberam o zinco tiveram as concentrações plasmáticas de produtos de peroxidação lipídica reduzidas, enquanto que nenhuma alteração foi observada no grupo controle. Segundo os autores, a suplementação com zinco em indivíduos que possuem condições associadas ao aumento do estresse oxidativo, deve ser melhor avaliada.

## 2.5 Obesidade, síndrome metabólica e estresse oxidativo

A literatura tem demonstrado que a obesidade associada a síndrome metabólica normalmente apresenta elevada produção de espécies reativas de oxigênio. Neste sentido, os principais mecanismos envolvidos vão desde a presença de inflamação crônica de baixa intensidade, resistência à insulina até a produção aumentada de NADPH oxidase pelo tecido adiposo. De acordo com Van Guilder et al. (2006), os pacientes com síndrome metabólica possuem elevada produção de lipoproteína de baixa densidade, proteína C reativa, TNF- $\alpha$ , IL-6 e LDL oxidada quando comparados aos obesos sem a síndrome. Estes autores avaliaram 48 indivíduos de peso normal e 40 obesos, sendo 20 com a síndrome metabólica e 20 sem a síndrome e verificaram efeitos sinérgicos da obesidade e síndrome metabólica com os biomarcadores do estresse oxidativo e inflamação.

Aaron et al. (2006) analisaram 34 crianças distribuídas em 3 grupos: com peso normal, excesso de peso e síndrome metabólica e, excesso de peso sem a síndrome. Nos pacientes obesos, o estresse oxidativo estava elevado principalmente naqueles com a síndrome metabólica pois, apesar de não apresentar diferença significativa na concentração de TNF- $\alpha$ , foi verificada maior quantidade de insulina, IL-6, proteína C reativa, leptina e de 8-isopropane, sendo este último, biomarcador do estresse oxidativo. Segundo os autores, o aumento do estresse oxidativo na síndrome metabólica em crianças obesas favorece a manifestação da aterosclerose precocemente.

No estudo de Skalicky et al. (2008) foi avaliado o nível de estresse oxidativo e inflamação em 40 adultos obesos com e sem síndrome metabólica e comparado com o grupo controle. Os autores avaliaram a concentração de malondialdeído, glutathiona oxidada e reduzida, fibrinogênio, proteína C reativa e marcadores que determinam a síndrome metabólica e verificaram que o aumento do estresse oxidativo foi potencializado nos obesos com a síndrome metabólica.

A presença de inflamação crônica de baixa intensidade está relacionada à resistência à insulina que influencia a síndrome metabólica. De acordo com Volp et al. (2008) e Dandona et al. (2007), independente do agente iniciante, a relação entre a resistência à insulina e processo inflamatório é bidirecional, ou seja, qualquer processo inflamatório crônico induz a resistência à insulina, e esta por sua vez,



acentua o processo inflamatório. Associado a isso, espécies reativas de oxigênio ativam fatores de transcrição sensíveis a oxido-redução, particularmente o fator nuclear  $\kappa$ B, induzindo a expressão de proteínas inflamatórias incluindo TNF- $\alpha$  e IL-6 (LAVROVSKY et al., 2000).

A gordura visceral ao produzir citocinas, como a IL-6 e TNF- $\alpha$  induz a resistência à insulina. Solá et al. (2008) encontraram aumento de marcadores inflamatórios em obesos com a síndrome metabólica quando comparado com aqueles sem a síndrome. As citocinas produzidas particularmente pelo tecido adiposo visceral induz a resistência à insulina e a síndrome metabólica, provavelmente por aumentar a lipólise, com inibição da lipase de lipoproteína, aumento da liberação de ácidos graxos livres e glicerol e redução da expressão do substrato do receptor de insulina-1 (IRS-1) e GLUT-4 nos tecidos muscular e hepático (VOLP et al., 2008).

A síndrome metabólica consiste num conjunto de condições metabólicas, tais como hipertriglicemia, LDL elevadas, HDL diminuídas, resistência à insulina, intolerância à glicose e hipertensão arterial, que em associação com a suscetibilidade genética e obesidade abdominal, constituem risco para a ocorrência de diabetes tipo 2, inflamação vascular, aterosclerose, insuficiência renal e hepática e doenças cardíacas (GRUNDY et al., 2004). De acordo com Grattagliano et al. (2008), pacientes com a síndrome metabólica apresentam alteração no metabolismo mitocondrial, aumento de depósitos de gordura abdominal e elevado nível circulante de ácido graxo, sendo estes fatores contribuintes para o desequilíbrio entre o aumento da produção de radicais livres e reduzida defesa antioxidante.

O estresse oxidativo parece impedir a secreção de insulina pelas células  $\beta$  do pâncreas (MATSUOKA et al., 1997), o transporte de glicose no músculo (MADDUX et al., 2001) e tecido adiposo (RUDICCH et al., 1998) induzindo a resistência à insulina nesses tecidos. Furukawa et al. (2004) pesquisaram em homens obesos a peroxidação lipídica, por meio da concentração no plasma de TBARS e 8-epi-PGF $2\alpha$  na urina e observaram que o estresse oxidativo ocorreu em pacientes com elevado índice de massa corpórea, independente de hiperglicemia. Paralelamente, os autores determinaram a expressão das enzimas antioxidantes superóxido dismutase, glutathiona peroxidase e catalase em tecido adiposo branco de ratos KKAY obesos e observaram diminuição destas enzimas nos obesos.

NAOTO et al. (2008), ao analisar o fígado e tecido adiposo de ratos submetidos a alimentação com elevada concentração de gordura observaram que o estresse oxidativo precede a resistência à insulina. Neste estudo foi verificada super expressão de genes responsáveis pela produção de espécies reativas de oxigênio no fígado e tecido adiposo antes da resistência à insulina. Segundo os autores, a produção de espécies reativas de oxigênio pode influenciar o desenvolvimento da resistência à insulina.

Diante das alterações metabólicas e bioquímicas normalmente verificadas na obesidade e na síndrome metabólica, com a produção excessiva de espécies reativas de oxigênio, distúrbios no metabolismo de minerais e em componente do sistema de defesa antioxidante, a realização deste estudo pode contribuir para um melhor entendimento acerca da influência dos componentes dessa síndrome sobre os mecanismos defesa antioxidante na obesidade.

## **3.0 OBJETIVOS**

---

### **3.0 OBJETIVOS**

#### **3.1 Objetivo Geral**

Avaliar a zincemia, atividade das enzimas superóxido dismutase e glutationala peroxidase e sua relação com parâmetros da síndrome metabólica em mulheres obesas.

#### **3.2. Objetivos Específicos**

- Analisar o consumo alimentar e adequação da dieta em relação à macronutrientes e zinco.
- Avaliar as concentrações plasmáticas e eritrocitárias de zinco.
- Determinar a atividade das enzimas superóxido dismutase e glutationala peroxidase em mulheres obesas.
- Investigar a existência da relação entre a zincemia, atividade das enzimas superóxido dismutase e glutationala peroxidase e os componentes da síndrome metabólica nas mulheres obesas.

## **4.0 CASUÍSTICA E MÉTODOS**

---

## **4.0 CASUÍSTICA E MÉTODOS**

### **4.1 Caracterização do estudo e protocolo experimental**

Estudo de natureza transversal, analítico, caso controle, envolvendo 73 mulheres, na faixa etária entre 20 a 50 anos. As pacientes foram distribuídas em 2 grupos: controle (eutróficas, n= 36) e estudo (obesas, n=37). As mulheres obesas foram recrutadas da demanda espontânea do Ambulatório Escola da Faculdade Integral Diferencial (FACID), Teresina- Piauí.

As mulheres obesas foram selecionadas de acordo com os seguintes critérios de elegibilidade: IMC a partir de 30 Kg/m<sup>2</sup>, não fumantes, não apresentar doenças crônicas, como diabetes mellitus e insuficiência renal crônica, ou processos inflamatórios clínicos rotineiros e ainda uso de medicamentos e/ou suplementos nutricionais que pudessem interferir no estado nutricional relativo ao zinco (APÊNDICE A).

O grupo controle foi constituído por voluntárias que freqüentavam o Ambulatório Escola da Faculdade Integral Diferencial para consulta de rotina e que possuíam características semelhantes às pacientes obesas quanto à faixa etária, gênero, nível social e que não apresentassem nenhum dos critérios de exclusão acima mencionados.

Inicialmente foi definida a realização deste estudo envolvendo pacientes de ambos os sexos, no entanto, pelas diferenças hormonais existentes entre os gêneros, bem como pela maior demanda das mulheres no Ambulatório, optou-se por realizar o estudo apenas com aquelas pacientes do sexo feminino. Dessa forma, a definição da amostra representativa de mulheres obesas foi baseada no número médio de pacientes atendidas anual no ambulatório Escola da Faculdade Integral Diferencial (FACID), o que totalizou 37 mulheres obesas.

O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal do Piauí e todas as participantes assinaram termo de consentimento informado previamente ao início do estudo.

A seleção das participantes do estudo foi realizada por meio de uma entrevista para averiguar se estas estavam aptas a participar da pesquisa de acordo com os critérios propostos para o desenvolvimento do trabalho.

Etapas das atividades realizadas com as participantes do estudo:

- a) Seleção das pacientes obesas e grupo controle;
- b) Procedimentos éticos, consentimento esclarecido;
- c) Entrega de formulário para o registro alimentar;
- d) Agendamento da coleta de sangue;
- e) Obtenção de amostras de sangue;
- f) Realização de medidas de composição corporal;
- g) Avaliação de consumo alimentar;
- h) Determinação de medidas bioquímicas.

## **4.2 Avaliação do estado nutricional**

### **4.2.1 Parâmetros antropométricos**

- **Peso (Kg) e Altura (cm):**

O peso corporal foi determinado utilizando-se uma balança digital Plena<sup>®</sup> com capacidade máxima de 150 Kg, graduada em 100g, estando os participantes descalços e com roupas leves. A estatura foi medida com antropômetro portátil marca Seca<sup>®</sup>, de dois metros, fixado à parede nivelada, com a participante descalça, a cabeça posicionada na posição de Frankfurt, admitindo variação máxima de 0,5 cm entre duas medidas (NOLASCO, 1995).

- Índice de Massa Corpórea (IMC)

A obesidade foi determinada pelo “Índice de Quetelet” ou índice de massa corpórea, que é calculado a partir do peso do indivíduo (Kg) dividido pela sua altura (m) elevada ao quadrado (WHO, 2000).

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

A classificação da obesidade pelo índice de massa corporal, foi de acordo com os critérios da Organização Mundial de Saúde (WHO, 2000), apresentados do Quadro 1

**Quadro 1:** Classificação do estado nutricional, segundo o Índice de Massa Corpórea em adultos.

<b>Classificação</b>	<b>IMC (Kg/m<sup>2</sup>)</b>
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).

- Circunferência da cintura

A medida da circunferência da cintura foi realizada com as pacientes em pé, utilizando uma fita métrica não extensível, circundando o indivíduo na linha natural da cintura, na região mais estreita entre o tórax e o quadril, no ponto médio entre a última costela e a crista ilíaca. 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 (2000).

### 4.3 Avaliação da composição corporal

#### 4.3.1 Impedância bioelétrica

Para avaliação do percentual de gordura dos participantes do estudo foi utilizado a impedância bioelétrica como aparelho BYODYNAMICS modelo 310, Body Composition Analyser – USA.

Para a determinação desta medida, os indivíduos ficaram deitados, em decúbito dorsal, com as pernas e os braços afastados do corpo. Após limpeza da pele, foram colocados 2 eletrodos (um distal e outro proximal) nos seguintes pontos anatômicos:

- Pé direito: o eletrodo distal na base do dedo médio e o eletrodo proximal um pouco acima da linha da articulação do tornozelo, entre o maléolo medial e lateral da tíbia.
- Mão direita: o eletrodo distal na base do dedo médio e o eletrodo proximal um pouco acima da linha da articulação do punho, coincidindo com o processo estilóide.

Após a colocação dos eletrodos, os cabos sensores foram conectados no monitor e suas extremidades nos eletrodos, em seguida, foram digitados os dados referentes ao gênero, idade, altura, e peso, para obtenção do relatório sobre a composição corporal (BIODYNAMICS, 1995).

#### **4.4 Determinação de macronutrientes e zinco na dieta**

O consumo de alimentos foi avaliado por meio de um inquérito alimentar realizado de acordo com a técnica de registro de alimentos durante três dias, compreendendo dois dias da semana e um dia do final da semana (**APÊNDICE B**). As pacientes foram orientadas quanto à forma correta de anotar os alimentos, discriminando o tipo de refeição, preparações, porcionamento, medidas caseiras, quantidades e horários em que foram consumidas. Esta metodologia foi escolhida devido a possibilidade de abranger, à curto prazo, a variabilidade de alimentos consumidos por um grupo de indivíduos (BASLOTIS et al., 1987).

Os inquéritos alimentares foram analisados pelo programa computadorizado 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 na determinação da composição de nutrientes, tomando-se por base a Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (TACO, 2006).

Para verificar a concentração de zinco presente nas dietas consumidas pelas participantes do estudo, foi utilizada a Estimated Average Requirement (EAR), contida nas DRIs (INSTITUTE OF MEDICINE/FOOD AND NUTRITION BOARD, 2001).

#### **4.5 Coleta de material biológico**

Amostras de 20mL de sangue foram retiradas no período da manhã, 7:30 às 9:00 horas, estando os indivíduos em no mínimo 12h de jejum. O sangue foi coletado com seringas plásticas descartáveis e agulhas de aço inoxidável, estéreis e

descartáveis, sendo a seguir distribuído em tubos distintos: (1) tubo de vidro contendo citrato de sódio a 30% como anticoagulante (10µg/mL de sangue), para análise de zinco; (2) tubo de vidro com EDTA (1mg/mL) para análise das enzimas superóxido dismutase e glutathione peroxidase (5mL); (3) tubo sem anticoagulante para a determinação do perfil lipídico e insulina (5mL); (4) tubo com EDTA para a análise da glicemia de jejum (5mL).

#### **4.6 Parâmetros bioquímicos de determinação do zinco**

##### **4.6.1 Controle de contaminação**

Toda vidraria e o material de polipropileno a ser utilizado para análise de zinco foram cuidadosamente desmineralizados numa solução de ácido nítrico a 30%, por no mínimo por 12 horas, enxaguados 10 vezes consecutivas em água deionizada, minimizando assim a contaminação por minerais (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 1985).

##### **4.6.2 Reagentes**

A água utilizada no preparo das soluções e para diluição das amostras foi processada pelo MILLIQ<sup>®</sup> Water Syster (Continental Water Syster Corp. El Paso, Texas) para que ficasse isenta de íons.

#### 4.6.3 Separação dos componentes do sangue

O plasma foi separado do sangue total por centrifugação a 3000 x g durante 15 minutos (centrífuga SIGMA<sup>®</sup> 2K15), sendo o mesmo extraído com pipeta automática, acondicionado em tubos de polipropileno desmineralizados e estocado em freezer a -20°C para posterior análise.

Para separação do eritrócito e subsequente determinação do zinco, foi utilizado o método proposto por Whithehouse et al. (1982). Os eritrócitos foram lavados com 10mL de solução salina isotônica 0,9%, cuidadosamente homogeneizada lentamente por inversão e centrifugado a 10000 x g por 10 minutos, sendo o sobrenadante descartado.

O procedimento descrito foi realizado três vezes, para remover contaminantes do eritrócito (plaquetas e leucócitos). Após a última centrifugação, a solução salina foi aspirada, descartada e a massa eritrocitária foi extraída cuidadosamente com o auxílio de uma pipeta automática, transferida para tubos de polipropileno desmineralizados e mantidos à temperatura de - 20°C até o momento da análise.

#### 4.6.4 Determinação do zinco no plasma

A determinação da concentração do zinco no plasma foi realizada por espectrofotometria de absorção atômica de chama, segundo o método proposto por Rodriguez et al. (1989). Duas alíquotas de cada amostra foram preparadas, diluindo-se em água processada pelo MILLIQ<sup>®</sup> Water Syster (Continental Water Syster Corp. El Paso, Texas), na proporção de 1:4, e aspiradas diretamente no espectrofotômetro.

O aparelho de espectrofotometria de absorção atômica utilizado teve as seguintes especificações: marca: VARIAN SS 220; comprimento de onda: 213,9 nm; fenda: 1nm; chama oxidante acetileno/ar, com fluxo de 2,5: 15l/mim respectivamente; sistema de atomização-queimador com cabeça de uma fenda de

10cm de largura e nebulizador munido de pérola de impacto e três leituras com tempo de 3 segundos.

O equipamento foi calibrado com soluções aquosas de glicerol a 3% e ácido nítrico a 1%, preparadas por diluição de padrão de zinco Tritizol<sup>®</sup> (MERCK), nas concentrações de 0,1; 0,2; 0,3; 0,5; 1,0  $\mu\text{g/mL}$ , sendo os resultados fornecidos em absorbância obtidas e expressos em  $\mu\text{gZn/dL}$ , representando a média das concentrações das amostras preparadas em duplicatas. Os valores de referência para a concentração de zinco no plasma foram de 70 a 110  $\mu\text{g/dL}$  (GIBSON,1990).

#### 4.6.5 Determinação de zinco nos eritrócitos

Para determinação de zinco nos eritrócitos, uma alíquota de 400  $\mu\text{L}$  de massa de eritrócito foi diluída 40 vezes em água MILLI-Q<sup>®</sup>. Esta diluição foi feita em duas etapas chamadas lisado 1 e 2, correspondentes respectivamente, a uma primeira diluição da alíquota de 400  $\mu\text{L}$  na proporção de 1:4; e a uma segunda diluição na qual foram pipetados em triplicata 400  $\mu\text{L}$  do lisado 1 e diluídos novamente na proporção de 1:10. Após homogeneização, as amostras de lisado 2 foram aspiradas diretamente no espectrofotômetro de absorção atômica. O branco, preparado a 1% de ácido nítrico, foi lido em paralelo às amostras, a fim de se verificar a presença de contaminação durante o preparo das mesmas.

A determinação da concentração de zinco nos eritrócitos foi feita em triplicata utilizando-se o mesmo equipamento e condições descritas para o plasma, modificando-se apenas os padrões de zinco, preparados em solução aquosa.

Para expressar os resultados, em termos de zinco/massa de hemoglobina, foram preparadas paralelamente às amostras para análise do zinco, aquelas para análise da concentração de hemoglobina. Uma alíquota de 20 $\mu\text{L}$  do lisado 1 do eritrócito foi diluída em 5mL de solução de Drabkin e determinada segundo o método da cianometahemoglobina (VAN ASSENDELFT, 1972).

O espectrofotômetro UV visível (FEMTO Modelo 700S) foi utilizado para leitura da hemoglobina, num comprimento de onda de 540 nm. A partir dos valores das concentrações de zinco e de hemoglobina, foi calculada a concentração de zinco,

expressa em  $\mu\text{g}$  de Zn/gHb. Os valores de referência para a concentração de zinco nos eritrócitos foi de 40 a 44  $\mu\text{gZn/gHb}$  (GUTHIERIE; PICCIANO, 1994).

#### **4.7 Determinação da atividade das enzimas superóxido dismutase e glutathione peroxidase nos eritrócitos**

Inicialmente, o plasma foi separado do sangue total por centrifugação a 3000 x g durante 15 minutos a 4 °C, extraído com pipeta automática e acondicionados em tubos de “ eppendorfs” de polipropileno previamente desmineralizados. A separação dos eritrócitos foi obtida por meio de um processo de lavagem da massa eritrocitária com 5 mL de solução salina a 9% e homogeneizada lentamente por inversão e centrifugada a 4000 x g por 10 minutos (SORVALL ® 2K15) a 4 °C, descartando o sobrenadante, sendo o procedimento repetido por três vezes. Após a última centrifugação, a solução salina foi aspirada, desprezada e a massa eritrocitária foi cuidadosamente extraída com micropipeta, colocada em tubos eppendorfs desmineralizados, e acondicionados à 80° C, para as análises posteriores das enzimas superóxido e glutathione eritrocitária.

A atividade da enzima superóxido dismutase eritrocitária foi determinada nos eritrócitos pelo método *in vitro*, em um analisador bioquímico Lysis, utilizando um kit disponível comercialmente (Ransod; Randox Laboratories, UK), conforme metodologia recomendada pelo fabricante. O lisado foi diluído com tampão fosfato 0.01mol/l pH 7,0, de forma que o percentual de inibição ficasse entre 30 % e 60%. Para tanto, foram preparados além da amostra, o substrato misto, tampão, xantina oxidase e o padrão, para posteriormente ser calculada a atividade da enzima em análise. Sendo a mesma expressa em U/gHb.

A determinação da atividade da glutathione peroxidase foi realizada nos eritrócitos, de acordo com a metodologia proposta por Paglia; Valentine (1967), no analisador bioquímico automático Liasys®, utilizando um kit disponível comercialmente (Ransel; Randox Laboratories, UK). Esta técnica baseia-se na oxidação da glutathione em peróxido de hidrogênio. Na presença da glutathione redutase e NADH, a glutathione oxidada é imediatamente convertida a forma reduzida, com concomitante oxidação de NADH (reduzido NADPH a NADH+).

Também foi determinada a concentração de hemoglobina, uma vez que a atividade da enzima é expressa em  $\mu\text{mol}$  de NADH oxidado/min/mg de hemoglobina.

As análises da atividade das enzimas superóxido dismutase e glutathione peroxidase foram realizadas no Laboratório de Doenças Nutricionais e Metabólicas da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo/USP.

#### **4.8 Avaliação da síndrome metabólica**

A I Diretriz Brasileira de Diagnóstico e Tratamento da Síndrome Metabólica (BRANDÃO et al., 2005) segue as definições da National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III (NCEP- ATP III, 2002), onde a síndrome metabólica é caracterizada pela combinação de pelo menos três componentes representados no Quadro 3.

Para a avaliação das concentrações de triglicérides, colesterol, HDL e glicemia de jejum foi colhido o sangue das pacientes, após 12 horas de jejum, e analisados segundo método enzimático e colorimétrico, respectivamente. A determinação da insulina foi realizada por radioimunoensaio. A aferição da pressão arterial foi feita com Aparelho Digital de Pulso da marca G-Tech, modelo BP3AF1-3, após o paciente ficar 10 minutos em repouso.

**Quadro 3** : Componentes da síndrome metabólica segundo o NCEP-ATP III.

<b>COMPONENTES</b>	<b>NÍVEL</b>
<b>Obesidade abdominal por meio da circunferência abdominal</b>	
Homens	> 102 cm
Mulheres	> 88 cm
<b>Triglicerídeos</b>	≥ 150 mg/dL
<b>HDL Colesterol</b>	
Homens	< 40 mg/dL
Mulheres	< 50 mg/dL
<b>Pressão Arterial</b>	≥ 130/ ≥ 85 mm Hg
<b>Glicemia de Jejum</b>	≥ 110 mg/dL

Fonte: Adaptação do NCEP-ATP III (2002).

#### 4.9 Caracterização da resistência insulínica

O Homeostasis Model Assessment (HOMA) é um modelo matemático que se baseia na interação da glicose com a insulina. Este índice indica o grau de combinação de uma dada hiperglicemia com concentrações basais de insulina baixa, normal e elevada (MATTHEWS et al., 1985). O HOMA tem sido proposto como um método para avaliar a sensibilidade ou resistência à insulina e a função das células  $\beta$ , a partir das concentrações de insulina e glicose de jejum, utilizando a seguinte fórmula:

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

Os valores de HOMA determinam a eficácia dos níveis de insulina de jejum em equilíbrio para regular a glicose sanguínea (MATTHEWS et al., 1985).



#### **4.10 Análise estatística**

Foi realizada uma análise descritiva das variáveis observadas nos grupos em estudo utilizando medidas de tendência central e de dispersão, como média e desvio padrão. Os dados foram analisados no programa estatístico S-PLUS V. 3.2 Release, no Minitab for Windows Release 11.0 e no SPSS for Windows 9.0.

As relações entre as variáveis foram testadas usando o teste t de Student. A diferença foi considerada significativa quando  $p < 0,05$  e intervalo de confiança adotado foi de 95%. Na análise das variáveis possivelmente inter-relacionadas foi utilizado o coeficiente de correlação de Pearson e análise de regressão linear multivariada.

Para avaliar os componentes da síndrome metabólica que possam influenciar os valores das enzimas superóxido dismutase, glutaciona peroxidase e zinco eritrocitário, foi examinada a aplicação de um modelo de regressão multivariada contendo como variáveis independentes: glicose plasmática, colesterol total, triglicerídeo, colesterol HDL, IMC, circunferência da cintura e pressão arterial e como variáveis dependentes: as enzimas superóxido dismutase, glutaciona peroxidase e o zinco eritrocitário. Considerou-se o modelo de regressão significativo quando este apresentou  $p \leq 0,05$ .

#### **4.11 Aspectos éticos**

O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal do Piauí, CAAE (Certificado de Apresentação para Apreciação do Comitê de Ética) N<sup>o</sup>084.0.045.000-09 (ANEXO A). As participantes do estudo assinaram o Consentimento Livre e Esclarecido, após as mesmas terem recebido informações detalhadas sobre a natureza da investigação, obedecendo as normas do Conselho Nacional de Pesquisa, contidas na Resolução 196/96 (APÊNDICE C).

## **5.0 RESULTADOS**

---

## 5.0 RESULTADOS

### 5.1 Avaliação do estado nutricional e composição corporal das participantes do estudo

Os valores médios e desvios padrão dos parâmetros antropométricos e composição corporal utilizados na avaliação do estado nutricional estão na Tabela 01. Foram encontradas diferenças estatísticas significativas ( $p < 0,05$ ) em relação ao peso, IMC, circunferência da cintura, percentual de gordura corporal, peso em massa magra e massa gorda nos grupos avaliados.

**Tabela 01:** Valores médios e desvios padrão da idade, peso, altura, índice de massa corpórea, circunferência da cintura, percentual de gordura, massa magra, massa gorda das mulheres obesas e grupo controle.

Parâmetros	Mulheres Obesas	Controle
	Média $\pm$ DP	Média $\pm$ DP
	(n=37)	(n=36)
Idade (anos)	33,7 $\pm$ 7,89	31,25 $\pm$ 7,82
Peso (Kg)	82,6 * $\pm$ 11,4	54,4* $\pm$ 5,4
Altura (cm)	154,3 $\pm$ 0,0	157,6 $\pm$ 0,05
IMC (Kg/m <sup>2</sup> )	34,5* $\pm$ 3,4	21,7* $\pm$ 1,9
CC (cm)	102,4* $\pm$ 8,5	75,4 * $\pm$ 6,3
GC (%)	41,6* $\pm$ 6,3	30,7* $\pm$ 9,7
MM (Kg)	47,9* $\pm$ 7,3	37,2 * $\pm$ 6,2
MG (Kg)	34,5* $\pm$ 7,7	16,7* $\pm$ 6,0

IMC= índice de massa corporal, GC (%)= percentual de gordura, MM (Kg)= massa magra, MG (Kg)= massa gorda, CC= circunferência da cintura. \* Valores significativamente diferentes entre as mulheres obesas e grupo controle, teste t de Student ( $p < 0,05$ ).

## 5.2 Avaliação do consumo alimentar

Os valores médios e desvios padrão dos parâmetros obtidos da análise das dietas consumidas pelas mulheres obesas e grupo controle estão descritos na Tabela 02. Verifica-se que houve diferença estatística significativa ( $p < 0,05$ ) em relação à energia, lipídeos e ingestão de zinco.

**Tabela 02:** Valores médios e desvios padrão do zinco, macronutrientes e energia presentes na alimentação das mulheres obesas e grupo controle.

Energia/Nutrientes	Mulheres Obesas	Controle
	Média ± DP	Média ± DP
Energia (Kcal)	1814,6* ± 485,0	1360,2 *± 340,9
Carboidratos (%)	46,5 ± 8,0	50,4 ± 8,9
Proteínas (%)	20,5 ± 5,0	22,2 ± 6,5
Lipídeos (%)	33,0* ± 6,0	27,4* ± 6,4
Zinco (mg/dia)	10,8* ± 4,7	7,6* ± 2,9

\* Valores significativamente diferentes entre as mulheres obesas e grupo controle, teste t de Student ( $p < 0,05$ ). Valores de referencia de ingestão de zinco: EAR=8,5 mg/dia (INSTITUTE OF MEDICINE, 2001).

## 5.3 Parâmetros bioquímicos de avaliação do zinco

Na Tabela 03 encontram-se os valores médios e desvios padrão obtidos das concentrações de zinco no plasma e nos eritrócitos das mulheres obesas e grupo controle. Verifica-se diferença estatística significativa entre as concentrações eritrocitárias de zinco entre os grupos ( $p < 0,05$ ).

**Tabela 03:** Valores médios e desvios padrão das concentrações plasmáticas e eritrocitárias de zinco das mulheres obesas e grupo controle

Parâmetros	Mulheres Obesas	Controle	p
	Média ± DP	Média ± DP	
Plasma (µg/dL)	72,2 ± 9,0	73,4 ± 8,5	p>0,05
Eritrócito (µgZn/gHb)	36,4 ± 15,0	45,4 ± 14,3	p<0,05

Teste t de Student

#### 5.4 Concentrações séricas das enzimas superóxido dismutase e glutathiona peroxidase

Na Tabela 04 encontram-se os valores médios e desvios padrão obtidos da atividade das enzimas superóxido dismutase e glutathiona peroxidase nos eritrócitos das pacientes obesas e grupo controle. Pode-se verificar diferença significativa em relação à atividade da enzima glutathiona peroxidase ( $p<0,05$ ).

**Tabela 04:** Valores médios e desvios padrão das concentrações eritrocitárias de superóxido dismutase e glutaciona peroxidase das mulheres obesas e grupo controle.

Parâmetros	Mulheres Obesas	Controle
	Média ± DP	Média ± DP
SOD (U/gHb)	1816,0 ± 680,4	1786,8 ± 490,7
GPX (U/gHb)	46,4*±19,4	36,7*±13,6

Valores de referência para SOD pelo kit Ransod Randox: 1102-1601 U/gHb. Valores de referência para GPX pelo kit Ransel 505 Randox: 27,5 – 73,6 U/gHb.\* Valores significamente diferentes entre os grupos de obesas e controle, Teste t de Student ( $p < 0,05$ ). SOD= superóxido dismutase. GPX= glutaciona peroxidase

### 5.5 Marcadores da síndrome metabólica dos participantes do estudo

Na Tabela 05 encontram-se os valores médios e desvios padrão obtidos das concentrações de glicose, triglicérides, colesterol total, colesterol HDL e insulina das mulheres obesas e grupo controle. Verifica-se que houve diferença estatística significativa em relação a pressão arterial e colesterol total entre os grupos estudados ( $p < 0,05$ ).

**Tabela 05:** Valores médios e desvios padrão da pressão arterial, colesterol total, colesterol HDL, colesterol LDL, triglicérideo, glicose, insulina, HOMA<sub>ir</sub>.

Parâmetros	Mulheres Obesas	Controle
	Média ± DP	Média ± DP
Pressão Sistólica	124,1* ± 15,1	108,2* ± 10,9
Pressão Diastólica	84,2* ± 10,6	73,6* ± 9,4
Colesterol Total	179,3* ± 118,7	168,2* ± 15,0
HDL Colesterol	39,4 ± 5,9	39,2 ± 5,4
Triglicérideo	82,3 ± 34,8	71,3 ± 24,3
Glicose	88,0 ± 16,4	86,0 ± 15,9
Insulina	14,3 ± 5,6	14,7 ± 6,1
HOMA <sub>ir</sub>	3,2 ± 1,6	3,2 ± 1,5

\* Valores significativamente diferentes entre as mulheres obesas e grupo controle, teste t de Student (p<0,05).

## 5.6 Correlações entre as concentrações do zinco e a atividade da enzima superóxido dismutase

Na Tabela 06 verificam-se os coeficientes obtidos das análises de correlação entre os parâmetros bioquímicos do zinco e a atividade da enzima superóxido dismutase nas mulheres obesas e grupo controle. Pôde-se verificar correlação positiva entre o zinco eritrocitário e a atividade da enzima.

**Tabela 06:** Correlação entre o zinco plasmático e eritrocitário e a atividade da enzima superóxido dismutase

Parâmetros	Coeficiente de correlação (r)	
	Mulheres Obesas	Controle
Zinco no plasma x SOD	0,15	0,25
Zinco no eritrócito x SOD	0,69*	0,74*

SOD= Superóxido dismutase. \* Correlação positiva significativa ( $p < 0,05$ )

### 5.7 Análise de regressão multivariada entre o zinco eritrocitário, a atividade das enzimas superóxido dismutase e glutathiona peroxidase e os parâmetros da síndrome metabólica nas mulheres obesas

Os resultados da análise de regressão multivariada entre os parâmetros avaliados encontram-se na Tabela 07. Pôde-se verificar que o modelo foi estatisticamente significativo na análise da superóxido dismutase e parâmetros da síndrome metabólica. Nesta análise, verificou-se correlação negativa entre a atividade da enzima, a glicose plasmática, IMC e circunferência da cintura ( $p \leq 0,05$ ).



**Tabela 07:** Análise de regressão multivariada dos parâmetros da síndrome metabólica, do zinco e da atividade das enzimas superóxido dismutase e glutaciona peroxidase nas mulheres obesas

Parâmetros	SOD			GPX			Zn Eritrocitário		
	Beta	t	sig.	Beta	t	sig.	Beta	t	sig.
Glicose	-0,50	-2,43	0,02*	-0,15	-0,75	0,46	-0,31	-1,44	0,16
Colesterol	-0,12	-2,79	0,43	-0,07	-0,46	0,65	0,03	0,17	0,87
Triglicerídeo	0,34	2,09	0,46	0,51	3,06	0,05*	0,21	1,20	0,24
HDL	-0,25	-1,48	0,15	-0,23	-1,36	0,18	-0,19	-0,08	0,29
IMC	-0,65	-2,80	0,01*	-0,22	-0,90	0,37	-0,57	-2,37	0,02*
CC	-0,63	-2,85	0,01*	-0,23	-1,00	0,32	-0,67	-2,85	0,01*
PAS	0,10	0,29	0,77	-0,02	-0,07	0,94	0,37	1,01	0,32
PAD	-0,10	-2,96	0,77	0,10	0,31	0,76	-0,56	-1,69	0,10
$r^2$	0,39			0,35			0,32		
F	2,26			1,91			1,70		
p	0,05*			0,10			0,14		

CC= Circunferência da cintura. SOD= superóxido dismutase; GPX= glutaciona peroxidase

\*Valores estatisticamente significante ( $p < 0,05$ )

### 5.8 Parâmetros bioquímicos do zinco e atividade das enzimas superóxido dismutase e glutaciona peroxidase nas mulheres obesas com e sem síndrome metabólica

Na Tabela 08 encontram-se os valores médios e desvios padrão dos parâmetros obtidos da análise do zinco plasmático e eritrocitário e a atividade das enzimas superóxido dismutase e glutaciona peroxidase nas mulheres obesas com e sem síndrome metabólica. Verifica-se que não houve diferença estatística significativa ( $p < 0,05$ ) entre os grupos avaliados.

**Tabela 08:** Valores médios e desvios padrão das concentrações plasmáticas e eritrocitárias de zinco e atividade das enzimas superóxido dismutase e glutathiona peroxidase em mulheres obesas com e sem a síndrome metabólica

<b>Parâmetros</b>	<b>Obesas com síndrome Média ± DP (n=17)</b>	<b>Obesas sem síndrome Média ± DP (n=20)</b>
Zinco Plasma (µg/dL)	72,3 ± 7,6	71,9 ± 10,2
Zinco Eritrócito (µgZn/gHb)	36,6 ± 15,5	36,6 ± 15,5
SOD (U/gHb)	1795,0 ± 666,1	1833,0 ± 709,1
GPX (U/gHb)	51,38 ± 22,82	42,1 ± 15,2

Valores de referência para SOD pelo kit Ransod Randox: 1102-1601 U/gHb. Valores de referência para GPX pelo kit Ransel 505 Randox: 27,5 – 73,6 U/gHb. SOD= superóxido dismutase, GPX= glutathiona peroxidase.

## **6.0 DISCUSSÃO**

---

## 6.0 DISCUSSÃO

Neste estudo foram determinados parâmetros bioquímicos do zinco e atividade das enzimas superóxido dismutase e glutaciona peroxidase, bem como foi investigada a sua relação com componentes da síndrome metabólica em mulheres obesas. As concentrações médias de zinco encontradas no plasma não demonstraram diferença estatística significativa entre os grupos pesquisados ( $p > 0,05$ ).

Apesar de não ter sido demonstrada diferença significativa nas concentrações de zinco no plasma, pôde-se verificar um maior teor deste mineral na dieta consumida pelas obesas ( $p < 0,05$ ). Dessa forma, o conteúdo superior de zinco encontrado nas dietas das mulheres obesas não parece ter influenciado os valores plasmáticos do mineral.

Nesse aspecto, é oportuno mencionar que o plasma é um parâmetro de avaliação deste oligoelemento que apresenta dinâmica rápida, e que o mantém sob um controle homeostático, podendo sofrer inúmeras influências fisiopatológicas em resposta a várias circunstâncias, tais como: estresse, infecção, catabolismo, hormônios e ingestão alimentar (HAMBIDGE, 2003; HESS et al., 2007; KING; SHAMES; WOODHOUSE, 2000).

Outro aspecto importante é que na circulação cerca de 80% do zinco está presente nos eritrócitos e apenas 16% se encontra no plasma. Neste sentido, em face da meia vida do eritrócito ser de 120 dias, o zinco eritrocitário torna-se um parâmetro do estado nutricional relativo a esse micronutriente de período mais longo, por isso é considerado um parâmetro mais sensível (DAVIS; MILNE; NIELSEN, 2000; MAFRA; COZZOLINO, 2004; VALLEE; FALCHUK, 1993).

Com intuito de obter melhor entendimento sobre o comportamento metabólico do zinco na obesidade, alguns estudos têm sido conduzidos, utilizando outros marcadores, como por exemplo, os eritrócitos, sendo este considerado mais sensível para a avaliação do estado nutricional relativo a este mineral. Dessa forma, diferentemente dos resultados obtidos no plasma, os valores médios da concentração de zinco nos eritrócitos das mulheres obesas no presente estudo foram significativamente menores do que os controles ( $p < 0,05$ ). Estes resultados estão de acordo com aqueles já encontrados por Marreiro; Fisberg; Cozzolino

(2002), num estudo conduzidos em crianças e adolescentes obesos e por Ozata et al. (2002) em homens adultos obesos.

Nessa discussão, um fato relevante diz respeito à composição corporal das pacientes avaliadas, sendo que estas apresentavam valores da circunferência da cintura e percentual de gordura corporal superior ao grupo controle ( $p < 0,05$ ), sendo que o acúmulo de tecido adiposo aumenta a concentração do cortisol, que por sua vez estimula a secreção da metalotioneína, proteína que promove a retenção de zinco nesse tecido, o que pode ter contribuído para os valores médios do zinco nos eritrócitos (BEGIN-HEICK et al., 1985; KIM et al., 2006).

Com relação aos resultados da determinação da atividade das enzimas superóxido dismutase e glutatona peroxidase nos eritrócitos, pôde-se verificar que estas estavam superiores em relação ao grupo controle, sendo que apenas a atividade da enzima glutatona peroxidase revelou diferença estatística significativa entre os grupos estudados ( $p > 0,05$ ).

Os dados obtidos da atividade da enzima superóxido dismutase e glutatona peroxidase estão de acordo com aqueles encontrados por Erdeve et al. (2004), que verificaram elevada atividade destas enzimas nos eritrócitos de crianças obesas e também por Capel e Dorel (1984) em ratos obesos. Para estes autores, nos primeiros estágios da obesidade pode haver aumento das enzimas antioxidantes para neutralizar o estresse oxidativo. Estes resultados parecem estar relacionados ao baixo grau de classificação da obesidade das pacientes obesas avaliadas, que apresentavam valores médios de IMC igual a  $34,5 \text{ kg/m}^2$ . Segundo a opinião de alguns pesquisadores, quanto maior o grau de obesidade menor a atividade das enzimas superóxido dismutase e glutatona peroxidase, o que não foi verificado nos resultados deste estudo (OLUSI, 2002; OZATA et al., 2002)

Por outro lado, resultados da maioria das pesquisas sobre a atividade das enzimas superóxido dismutase e glutatona peroxidase nos eritrócitos de obesos têm revelado redução na atividade dessas enzimas neste componente sanguíneo e aumento em tecidos específicos, conforme mostrado nos estudos de Ozata et al. (2002), Viroonudomphol et al. (2000) e Olusi (2002). De acordo com Viroonudomphol et al. (2000) a atividade dessas enzimas parece ser a primeira defesa a ser estimulada em resposta a adaptação ao estresse oxidativo em células e órgãos. Dessa forma, reforça o entendimento de que a redução na atividade dessas enzimas nos eritrócitos parece ocorrer em função da sua demanda para os tecidos.

A exemplo de outros estudos dessa natureza, Vincent et al. (1999) verificaram maior atividade da enzima superóxido dismutase dependente de manganês em mitocôndrias no miocárdio de ratos obesos em relação grupo controle. No mesmo estudo não foram encontradas diferenças significativas em relação à enzima glutathiona peroxidase e superóxido dismutase cobre-zinco dependentes.

Na opinião dos pesquisadores, o aumento na atividade de enzimas antioxidantes ocorre principalmente em tecidos específicos, como o fígado, rins, músculos, miocárdio, provavelmente em função de uma maior demanda da atividade destas enzimas para combater os radicais livres produzidos na obesidade. Segundo estes autores, o aumento da atividade desses antioxidantes não é suficiente para compensar a produção excessiva de espécies reativas de oxigênio nestes pacientes (CAPEL; DORRELL, 1984; NAKAO et al., 2000; VINCENT et al., 1999).

Um ponto importante a ser considerado nessa discussão, diz respeito aos resultados da análise realizada para investigar a relação entre os parâmetros bioquímicos do zinco e a atividade da enzima superóxido dismutase. Nesse aspecto, pôde-se verificar a existência de correlação positiva significativa entre o zinco eritrocitário e a enzima superóxido dismutase tanto nos obesos ( $r=0,69$ ), quanto nos controles ( $r= 0,74$ ). Estes dados podem ser justificados pelo fato do mineral ser cofator da enzima, evidenciando a sua importância como nutriente antioxidante.

Neste estudo, também foi realizada uma análise de regressão multivariada para verificar o comportamento dos parâmetros da síndrome metabólica em relação à atividade das enzimas superóxido dismutase, glutathiona peroxidase e o zinco eritrocitário. Quanto aos resultados destas análises, pôde-se verificar a existência de correlação negativa em relação à atividade da enzima superóxido dismutase e as concentrações plasmáticas de glicose, o índice de massa corpórea e a circunferência da cintura.

Sobre estes dados, é oportuno destacar que as alterações no metabolismo da glicose estão normalmente associadas aos distúrbios do estado oxidativo, o que explicaria a relação inversa encontrada entre a concentração plasmática de glicose e a atividade da enzima superóxido dismutase avaliadas neste estudo. De forma semelhante, no estudo de Baynes (1991), também foi verificada relação inversa entre estes parâmetros, ou seja, quanto maior a glicemia de jejum, menor a atividade da enzima antioxidante.

Outro resultado obtido da análise de regressão realizada neste estudo foi a relação inversa entre a atividade da enzima superóxido dismutase e os parâmetros antropométricos (circunferência da cintura e índice de massa corpórea). Uma justificativa para tal resultado, diz respeito às características do tecido adiposo, sendo este considerado um órgão endócrino, capaz de produzir citocinas pró-inflamatórias, que participam diretamente na produção de espécies reativas de oxigênio e resistência à insulina (RODRIGUES et al., 2003; SOLÁ et al. 2008). Assim, esta fundamentação pode contribuir para explicar o fato de ter sido encontrada relação inversa entre a atividade da enzima superóxido dismutase e os parâmetros de adiposidade avaliados neste estudo.

Analisando os resultados bioquímicos do zinco e atividade das enzimas superóxido dismutase e glutathione peroxidase entre as mulheres obesas com e sem a síndrome metabólica, pode-se verificar que não houve diferença significativa entre essas variáveis. Sobre este aspecto, embora seja bastante estabelecida na literatura a influência da síndrome metabólica sobre os componentes do sistema de defesa antioxidante, esses resultados mostram que as alterações verificadas nos parâmetros bioquímicos do zinco e atividades de enzimas antioxidantes, parecem ser decorrentes dos distúrbios da obesidade e não da presença da síndrome metabólica. Segundo opinião de pesquisadores, o estresse oxidativo precede a resistência insulínica e, portanto a síndrome metabólica (NAOTO et al., 2008).

A partir dos resultados deste estudo, podemos pressupor que apenas a atividade da enzima superóxido dismutase nos eritrócitos parece sofrer influência dos componentes da síndrome metabólica, como por exemplo, a glicose plasmática e alguns parâmetros de adiposidade (circunferência da cintura e IMC). Este dado explica a contribuição da alteração na glicemia e na gordura corporal sobre a manifestação do desequilíbrio entre a produção de espécies reativas de oxigênio e a defesa antioxidante em pacientes obesos. Contudo, novos estudos sobre a participação de substâncias antioxidantes no estresse oxidativo presente na obesidade poderão auxiliar no desenvolvimento de estratégias para intervenções tanto na prevenção quanto no tratamento de distúrbios associados a esta doença crônica.

## **7.0 CONCLUSÕES**

---



## 7.0 CONCLUSÕES

- ✓ O consumo de zinco pelas mulheres obesas é superior em relação ao grupo controle.
- ✓ As concentrações de zinco encontradas no plasma das pacientes obesas não apresentam diferença estatística significativa em relação ao grupo controle. Já os valores de zinco eritrocitário apresentam-se reduzidos em relação ao grupo controle, com diferença estatística significativa.
- ✓ A análise da atividade das enzimas superóxido dismutase e glutatona peroxidase demonstra que estas estavam mais elevadas nas mulheres obesas em relação ao grupo controle, sendo que apenas a atividade da glutatona peroxidase revelou diferença estatística significativa entre os grupos avaliados.
- ✓ A análise de regressão multivariada para investigar a influência dos componentes da síndrome metabólica sobre os antioxidantes (zinco, superóxido dismutase e glutatona peroxidase) revela significância estatística apenas em relação à superóxido dismutase, sendo que esta enzima possui correlação negativa com a glicose plasmática, a circunferência da cintura e o índice de massa corpórea.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AARON, S. K. et al. Oxidative Stress and Adverse Adipokine Profile Characterize the Metabolic Syndrome in Children. **Journal of the Cardiometabolic Syndrome**, v.1, n.4, p. 248-252, 2006.

ALVES, M. N. R. Os efeitos da obesidade na resposta immune. **Rev. Bras. Nutr. Clin.**, São Paulo, v. 21, n. 4, p. 316-319, 2006.

ANÇÃO, M. S. et al. **Programa de apoio à nutrição Nutwin: versão 1.5**. São Paulo. Departamento de Informática em Saúde, SPDM, UNIFESP/EPM, 2002. 1 CD-ROM.

ARAKY, E. et al. A cluster of four Sp1 binding sites required for efficient expression of the human insulin receptor gene. **J. Biol. Chem.**, v. 266, n. 6, p. 3944-3948, 1991.

ATKINSON, R. L. et al. Plasma zinc and copper in obesity and after intestinal bypass. **Ann. Intern. Med.**, Philadelphia, v. 89, p. 491-493, 1978.

BASIOTIS, P.P. et al. Number of Day of food intake records required to estimate individual and group nutrient intakes with defined confidence. **J. Nutr.**, Philadelphia, v. 117, p. 1638-1641, sept.1987.

BAYNES, J. W. Role of oxidative stress in development of complications in diabetes. **Diabetes**, v. 40, n. 4, p. 405-12. 1991.

BEGIN-HEICK, N. et al. Zinc supplementation attenuates insulin secretory activity in pancreatic islets of the ob/ob mouse. **Diabetes**, v. 34, n. 2, p.179-84, 1985.

BIODYNAMICS. **Monitor de composição corporal: biodynamics modelo 310**. São Paulo, 1995. 25p. (Manual).

BRANDÃO, A. P. et al. I Diretriz Brasileira de Diagnóstico e Tratamento da Síndrome Metabólica. **Arq. Bras. Cardiol.**, v. 84, p. 1-28, 2005.

BRAY, T. M.; BETTGER, W. J. The physiological role of zinc as an antioxidant. **Free Radical Biol. Med.**, v. 8, n. 3, p. 281-91, 1990.

BROW, K. H. Effect of infections on plasma zinc concentration and implication for zinc status assessment in low-income countries. **Am. J. Clin. Nutr.**, Bethesda, v. 68, p. 425S-429S, 1998.

BROWNLEE, M. Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications. **Nature**, v. 414, n. 6865, p. 813-820, 2001.

CAPEL, I. D.; DORRELL, H. M. Abnormal antioxidant defense in some tissues of congenitally obese mice. **Biochem**, v. 9, p. 219-241, 1984.

CARVALHO, M. H. C.; COLAÇO, A. L.; FORTES, Z. B. Citocinas, disfunção epitelial e resistência à insulina. **Arq. Bras. Endocrinol. Metab.**, v. 50, n. 2, 2006.

CHEN, M. D. et al. Zinc in hair and serum of obese individuals in Taiwan. **Am. J. Clin. Nutr.**, v. 48, n. 5, p.1307-1309, 1988.

COLLIPP, P. J. New development in medical therapy of obesity: thyroid and zinc. **Pediatr. Ann.**, Nassau, v. 13, p. 465-472, 1984.

COMINETTI, C.; MARREIRO, D. M.; COZZOLINO, S. M. F. Minerais e Obesidade. In: COZZOLINO, S. M. F (Org.) **Biodisponibilidade de nutrientes**. 3. ed., Barueri: Manole, 2009. cap. 37, p. 830.

COULSTON, L.; DANTONA, P. Insulin-like effects of zinc on adipocytes. **Diabetes**, v. 29, p. 665-667, 1980.

COUSINS, R. J. Absorption, transport, and hepatic metabolism of copper and zinc: special reference to metallothionein and ceruloplasmin. **Physiol. Rev**, v. 65, n. 2, p. 238-309, 1985.

COUSINS, R. J. A role of zinc in the regulation of gene expression. **Proc. Nutr. Soc.**, v. 58, p. 307-311, 1998.

COUSINS, R. J.; LUIZZI, J. P.; LICHTEN, L. A. Mammalian zinc transport, trafficking, and signals. **J. Biol. Chem.**, Baltimore, v. 281, p. 24085-24089, 2006.

COUSINS, R. J.; MCMAHON, R. J. Integrative aspects of zinc transporters. **J. Nutr.**, Philadelphia, v. 130, n. 5, p. 1384-1387, 2000.

DANDONA, P. A. et al. Proinflammatory Effects of Glucose and Anti-Inflammatory Effect of Insulin: Relevance to Cardiovascular Disease. **The American Journal of Cardiology**, v. 99, n. 4, p.15-26, 2007.

DAVIS, C.D.; MILNE, D. B.; NIELSEN, F. H. Changes in dietary zinc and copper affect zinc-status indicators of postmenopausal women, notably, extracellular superoxide dismutase and amyloid precursor proteins. **Am J Clin Nutr**, v. 71, n. 3, p.781-8, 2000.

DAVIS, S. R.; COUSINS, R. J. Methallothionein expression in animals: a physiological perspective on function. **J. Nutr.**, Philadelphia, v. 130, p. 1085-1088, 2000.

DERVIRGILIIS, C. et al. Zinc fluxes and zinc transporter genes in chronic diseases. **Mutat. Res.**, Amsterdam, v. 622, n. 1-2, p. 84-93, 2007.

DI MARTINO, G. et al. Relationship between zinc and obesity. **J. Med.**, v. 24, n. 2-3, p. 177-83, 1993.

DO, M. S. et al. Metallothionein gene expression in human adipose tissue from lean and obese subjects. **Horm. Metab. Res.**, v. 34, p. 348-351, 2002.

DUFNER-BEATTIE, J. et al. Structure, function, and regulation of a subfamily of mouse zinc transporter genes. **J. Biol. Chem.**, v. 278, n. 50, p. 50142-50, 2003.

ERDEVE, O. et al. Antioxidant Superoxide Dismutase Activity in Obese Children. **Biological Trace Element Research**, v. 98, p. 219- 227, 2004.

FAURE, P. et al. Zinc and insulin sensitivity. **Biol. Trace Elem. Res**, v. 32, p. 305-310, 1992.

FURUKAWA, S. et al. Increased oxidative stress in obesity and its impact on metabolic syndrome. **The Journal of Clinical Investigation**, v. 114, n. 12, 2004.

GIBSON, R. S. Assessment of trace element status. In: GIBSON, R. S. **Principles of Nutritional Assessment**. New York: Oxford University Press, 1990. cap.24, p. 511-576.

GRATTAGLIANO, I. et al. Oxidative stress-induced risk factors associated with the metabolic syndrome: a unifying hypothesis. **J. Nutr. Biochem.**, v. 19, n. 8, p.491-504, 2008.

GRUNDY, S. M. et al. Definition of Metabolic Syndrome: Report of the National Heart, Lung, and Blood Institute/American Heart Association Conference on Scientific Issues Related to Definition. **Circulation**, v.109, n.3, p.433-438, 2004.

GUTHIERIE, H. A.; PICCIANO, M. F. Micronutrient Minerals. In: GUTHERIE, H. A.; PICCIANO, M. F. **Human nutrition**. New York: Mosby; 1994, p. 351-357.

HAMBIDGE, M. Biomarkers of trace mineral intake and status. **J. Nutr.**, Philadelphia, v. 133, p. 948S-955S, 2003.

HENRIQUES, G. S.; HIRATA, M. H.; COZZOLINO, S. M. F. Aspectos recentes da absorção e biodisponibilidade do zinco e suas correlações com a fisiologia da isoforma testicular da enzima conversora de angiotensina. **Rev. Nutr.**, Campinas, v. 16, n. 3, p. 333-345, jul/set. 2003.

HESS, S. Y. et al. Use of serum zinc concentration as an indicator of population zinc status. **Food Nutr. Bull.**, v. b3, n. 28, p. S403-429, 2007.

HUANG, H.; MANTON, K.G. The role of oxidative damage in mitochondria during aging: a review. **Front. Biosci.**, v. 9, p. 1100-1117, 2004.

INSTITUTE OF MEDICINE/ FOOD AND NUTRITION BOARD. Dietary Reference Intakes vitamin a, vitamin k, arsenic, boron, chromium, copper, iodine, molybdenum, nickel, silicon, vanadium and zinc. Washington D.C: National Academy Press, 2001. 650p.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas analíticas, métodos químicos e físicos para análise de alimentos**. 3 ed. São Paulo, 1985. v. 1. 533p.

KENNEDY, M. L.; FAILLA, M. L. Zinc metabolism in genetically obese (ob/ob) mice. **J. Nutr.**, v. 117, p. 886-93, 1987.

KIM, J. R. et al. Association of anti-obesity activity of N-acetylcysteine with metallothionein- II down-regulation. **Exp. Mol. Med.**, Seoul, v. 38, n. 2, p. 162-172, 2006.

KING, J. R.; SHAMES, D. M.; WOODHOUSE L. R. Zinc homeostasis in humans. **J. Nutr.**, v. 130, n. 5S, p. 1360S-1366S, 2000.

LAVROVSKY, Y. B. et al. Role of redox-regulated transcription factors in inflammation, aging and age-related diseases. **Experimental Gerontology**, v. 35, n. 5, p. 521-532, 2000.

LEE, H. H. et al. Zinc absorption in human small intestine. **Am. J. Physiol.**, v. 256, n. 1, p. 87-91, 1989.

LORDELO, R. A. et al. Eixos hormonais na obesidade: causa ou efeito? **Arq. Bras. Endocrinol. Metab.**, Rio de Janeiro, v. 51, n. 1, p. 34-41, 2007.

MADDUX, B. A. et al. Protection Against Oxidative Stress Induced Insulin Resistance in Rat L6 Muscle Cells by Micromolar Concentrations of  $\hat{\pm}$ -Lipoic Acid. **Diabetes**, v. 50, n. 2, p. 404-410, 2001.

MAFRA, D.; COZZOLINO, S. M. F. Importância do zinco na nutrição humana. **Rev. Nutr.** v. 17, n.1, p. 79-87, 2004.

MARET, W. The function of zinc metallothionein: a link between cellular zinc and redox state. **J Nutr.**, Philadelphia, v. 130, p. 1455-1458, 2000.

MARREIRO, D. N. et al. Participação do zinco na resistência à insulina. **Arq. Bras. Endocrinol. Metab.**, v. 48, n. 2, p. 234-239, 2004.

MARREIRO, D. N. et al. 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.

MARREIRO, D. N. et al. Urinary excretion of zinc and metabolic control of patients with diabetes type 2. **Biol Trace Elem Res**, USA, v. 120, n. 1-3, p. 42-50, 2007.

MARREIRO, D. N.; FISBERG, M.; COZZOLINO, S. M. F. Zinc nutritional status in obese children and adolescents. **Biol. Trace Elem. Res.**, London, v. 86, p. 107-122, 2002.

- MATSUOKA, T. Y. et al. Glycation-dependent, reactive oxygen species-mediated suppression of the insulin gene promoter activity in HIT cells. **J. Clin. Invest.**, v. 99, n. 1, p.144-50, 1997.
- MATTHEWS, D. R. et al. Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. **Diabetologia**, v. 28, n. 7, p. 412-419, 1985.
- McMAHON, R. J.; COUSINS, R.J. Mammalian zinc transporters. **J. Nutr.**, v. 128, n. 4, p. 667-70, 1998.
- MEUNIER, N. J. M. et al. Importance of zinc in the elderly: The Zenith study. **Eur. J. Clin. Nutr.**, London, v. 59, n.2, p. S1-S4, 2005.
- NAKAO, C. T. et al. Extracellular superoxide dismutase in tissues from obese (ob/ob) mice. **Free Radic. Res.**, v. 33, n. 3, p.229-41, 2000.
- NAOTO, M.-N. et al. Increased oxidative stress precedes the onset of high-fat diet-induced insulin resistance and obesity. **Metabolism.**, v. 57, n. 8, p.1071-7, 2008.
- NOLASCO, M. P. B. Diagnóstico clínico. In: FISBERG, M. **Obesidade na infância e adolescência**. São Paulo: Fundação BYK, 1995. cap. 1, p. 9-13.
- OLUSI, S. O. Obesity is an independent risk factor for plasma lipid peroxidation and depletion of erythrocyte cytoprotective enzymes in human. **Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord.**, v. 26, p. 1159-1164, 2002.
- OVERBECK, S. et al. Intracellular zinc homeostasis in leukocyte subsets is regulated by different expression of zinc exporters ZnT-1 to Znt-9. **J. Leukoc. Biol.**, New York, v. 83, n. 2, p. 368-380, 2008.
- OZATA, M. et al. Increased oxidative stress and hipozincemia in male obesity. **Clin. Biochem.**, v. 85, p. 17-25, 2002.
- PAGLIA, D. E.; VALENTINE, W. N. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. **J. Lab. & Clin. Med.**, v. 70, n. 1, p. 159-169, 1967.

PALMITER R. D.; FINDLEY, S. D. Cloning and functional characterization of a mammalian zinc transporter that confers resistance to zinc. **Embo. J.**, v. 14, n. 4, p. 639-49, 1995.

PARK. J.; CHUNG, J.; KIM, J. B. New evaluations of redox regulating system in adipose tissue of obesity. **Diabetes Research and Clinical Practices**, v. 77S, p. S11- S16, 2007.

PERRONE, L., G et al. Zinc, copper, and iron in obese children and adolescents. **Nutrition Research**, v. 18, n. 2, p. 183-189, 1998.

PIRES, L. V. et al. The effect of Roux-en-Y gastric bypass on zinc nutritional status. **Obes Surg**, v.17, n. 5, p. 617-21, 2007.

POWELL, S. R. The antioxidant properties of zinc. **J. Nutr.**, Philadelphia, v. 130, n. 5, p. 1447-1545, may. 2000.

PRASAD, A. S. Zinc in human health: an update. **J. Trace. Element. Exp. Med.**, v. 11, p. 63-87, 1998.

PRASAD, A. S. et al. Antioxidant effect of zinc in humans. **Free Radical Biol. Med.**, v. 32, n. 8, p. 1182-1190, 2004.

PROHASKA, J. R. et al. Influence of Genetic Obesity, Food Intake and Adrenalectomy in Mice on Selected Trace Element-Dependent Protective Enzymes. **J. Nutr.**, v.118, n.6, p.739-746, 1988.

RASK E. et al. Tissue-specific dysregulation of cortisol metabolism in human obesity. **J. Clin. Endocrinol Metab.**, v. 86, n.3, p. 1418-1421, 2001.

RODRIGUES, H. D. et al. Suplementação nutricional com antioxidantes naturais: efeito da rotina na concentração de colesterol – HDL. **Rev. Nutr.**, v. 16, n.16, 2003.

RODRIGUEZ, M. P. et al. A simpler method for the determination of zinc human plasma levels by flame atomic absorption spectrophotometry. **At. Spectrosc.**, Norwilk, v. 10, n. 2, p. 68-70, 1989.

RUDICCH, A. et al. Prolonged oxidative stress impairs insulin-induced GLUT4 translocation in 3T3-L1 adipocytes. **Diabetes**, v. 47, n. 10, p.1562-1569, 1998.



SALGUEIRO, M. J. et al. Zinc as a essential micronutrient: a review. **Nutr. Res.** v. 20, n. 5, p. 737- 755, 2000.

SANTOS, H.G, SARDINHA, F. A. A.; COLLI, C. Zinco eritrocitário (validação de um método de análise) e zinco dietético na avaliação do estado nutricional de mulheres adultas. **RBCF**, São Paulo, v. 41, n.2, p. 205-213, 2005.

SATO, M. KONDOH, M. Recent studies on methallothionein: protection against toxicity of heavy metals and oxygen free radicals. **Tohoku J. Exp. Med.**, Sendai, v. 196, p. 9-22, 2002.

SEKLER, I. et al. Mechanism and regulation of cellular zinc transport. **Mol. Med.**, USA, v. 13, n. 7-8, p. 337-343, 2007.

SEVE, M. et al. In silico identification and expression of SLC30 family genes: On expressed sequence tag data mining strategy for the characterization of zinc transporters tissue expression. **BMC Genomics**, London, v. 5, p. 32, 2004.

SIQUEIRA Jr, J. F. Inflamação Aguda: Resposta Vascular e Celular. In: SIQUEIRA Jr, J. F; DANTAS, C. J. S. **Mecanismos celulares e moleculares da inflamação**. Rio de Janeiro:Medisi, 2000. cap 7, p. 90.

SKALICKY, J., et al. Evaluation of oxidative stress and inflammation in obese adults with metabolic syndrome. **Clinical Chemistry and Laboratory Medicine**, v.46, n.4, p.499-505, 2008.

SMIDT, K. et al. Zinc-transporters genes in human visceral and subcutaneous adipocytes: lean versus obese. **Mol. Cell. Endocrinol.**, Limerick, v. 264, p. 68-73, 2007.

SOLÁ, E. et al. Parameters of Inflammation in Morbid Obesity: Lack of Effect of Moderate Weight Loss. **Obes. Surg**, 2008.

**TABELA BRASILEIRA DE COMPOSIÇÃO DE ALIMENTOS – TACO**. 2 ed. 2006. Disponível em < <http://www.unicamp.br/nepa/taco/> >. Acesso em 01/08/2009.

THIRD REPORT OF THE NATIONAL CHOLESTEROL EDUCATION PROGRAM (NCEP) EXPERT PANEL ON DETECTION, EVALUATION, AND TREATMENT OF HIGH BLOOD CHOLESTEROL IN ADULTS (ADULT TREATMENT PANEL III) FINAL REPORT. **Circulation**, v. 106, n. 25, p. 3143-421, 2002.

TRAYHURN, P. J. S. et al. Metallothionein gene expression and secretion in white adipose tissue. **Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.**, v. 279, n. 6, p. R2329 – 2335, 2000.

VALLEE, B. L.; AULD, D. S. New perspectives on zinc biochemistry: cocatalytic sites in multi-zinc enzymes . **Biochem.**, v. 32, p. 6493-500, 1993.

VALLEE, B. L.; FALCHUK, K. H. The biochemical basis of zinc physiology. **Physiological Rev.**, v. 73, p. 79-118, 1993.

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.

VAN GAAL, L. F. et al. Mechanisms linking obesity with cardiovascular disease. **Nature**, v. 444, n. 7121, p. 875-880. 2006.

VAN GUILDER, G. P. et al. Influence of Metabolic Syndrome on Biomarkers of Oxidative Stress and Inflammation in Obese Adults. **Obesity**, v.14, n.12, p.2127-2131. 2006.

VINCENT, H. K.; INNES, K. E.; VINCENT, K. R. Oxidative stress and potential interventions to reduce oxidative stress in overweight and obesity. **Diabetes Obes. Metab.**, v.9, n.6, p.813-39, nov. 2007.

VINCENT, H. K. et al. Obesity is associated with increased myocardial oxidative stress. **Int J Obes Relat Metab Disord**, v. 23, n. 1, p.67-74, 1999.

VIROONUDOMPHOL et al. Erythrocyte antioxidant enzymes and blood pressure in relation to overweight and obese Thai in Bangkok. **Southeast Asian J Trop Med Public Health**, v. 31, n. 2, p. 325-34. 2000.

VOLP et al. Capacidade dos Biomarcadores Inflamatórios em Predizer a Síndrome Metabólica. **Arq. Bras. Endocrinol. Metab.**, v. 52, n. 3, p. 537-549, 2008.

YUYAMA, L. K. O. et al. Zinco. In: COZZOLINO. S. M. F (Org.) **Biodisponibilidade de nutrientes**. 3. ed., Barueri: Manole, 2009. cap. 28, p. 626.

WEISBERG, S. P. et al. Obesity is associated with macrophage accumulation in adipose tissue. **J. Clin. Invest.**, v.112, p.1796-1808, 2003.

WHITTHEHOUSE et al. Zinc in plasma, neutrophils, lymphocytes, and erythrocytes as determined by flameless atomic absorption spectrophotometry. **Clin. Chem.**, v. 28, n. 3, p. 475-80, 1982.

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

## **APÊNDICES**

---

## APÊNDICE A — FICHA DE CADASTRAMENTO DOS PARTICIPANTES

FICHA DE CADASTRAMENTO Nº \_\_\_\_\_

### IDENTIFICAÇÃO

Nome \_\_\_\_\_ Data \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

DN \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_ Idade \_\_\_\_ anos

Endereço \_\_\_\_\_

Bairro \_\_\_\_\_ Cidade \_\_\_\_\_ Estado \_\_\_\_\_

CEP \_\_\_\_\_ - \_\_\_\_\_ Telefones: \_\_\_\_\_

### HISTÓRIA CLÍNICA

1. Doenças Associadas: Sim ( ) Não ( )  
 ( ) Diabetes Mellitus ( ) Doença Renal ( ) Dislipidemias  
 ( ) Hipertensão Arterial Sistêmica ( ) Outras

2. Uso de Medicamentos: Sim ( ) Não ( )

Quais? \_\_\_\_\_

3. Uso de Suplementos Nutricionais: Sim ( ) Não ( )

Quais? \_\_\_\_\_

4. Fumante: Sim ( ) Não ( ) \_\_\_\_\_

5. Tratamento Prévio: Sim ( ) Não ( )

6. Pratica atividade física: Sim ( ) Não ( )

Qual e com que frequência: \_\_\_\_\_

### AVALIAÇÃO DO ESTADO NUTRICIONAL E DA COMPOSIÇÃO CORPORAL

#### 1. PARÂMETROS ANTROPOMÉTRICOS

- Peso: \_\_\_\_\_ Kg
- Altura: \_\_\_\_\_ m                      Altura <sup>2</sup>: \_\_\_\_\_ m<sup>2</sup>
- IMC: \_\_\_\_\_
- Estado Nutricional: \_\_\_\_\_
- Circunferência da cintura: \_\_\_\_\_ cm
- Pressão Arterial: \_\_\_\_\_ mm/Hg

## 2. IMPEDÊNCIA BIOELÉTRICA

- GC (%): \_\_\_\_\_
- GC (Kg): \_\_\_\_\_
- MM (Kg): \_\_\_\_\_
- TMB: \_\_\_\_\_

## 3. AVALIAÇÃO BIOQUÍMICA:

Glicemia de jejum: \_\_\_\_\_

Insulinemia de jejum: \_\_\_\_\_

HOMA-ir: \_\_\_\_\_

Perfil Lipídico: \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

Glutathiona Peroxidase: \_\_\_\_\_

Superóxido Dismutase: \_\_\_\_\_

Zinco Eritrocitário: \_\_\_\_\_

Zinco Plasmático: \_\_\_\_\_



## APÊNDICE C— TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ**  
**PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS E SAÚDE**  
**PROGRAMA DE MESTRADO EM CIÊNCIAS E SAÚDE**

### TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

**Título do Projeto:** Relação entre a zincemia e a atividade das enzimas superóxido dismutase e glutathione peroxidase em pacientes obesos.

**Pesquisadora responsável:** Dilina do Nascimento Marreiro

**Instituição/Departamento:** Universidade Federal do Piauí/ Programa de Mestrado em Ciências e Saúde

**Pesquisadora Participante:** Flávia Ennes Dourado Ferro

**Telefone para contato (inclusive ligações a cobrar):** (86) 8814-3543/ (86) 9987-6175

Você está sendo convidado (a) para participar, como voluntário (a), 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 está sendo conduzido pela mestrande Flávia Ennes Dourado Ferro, orientada pela Profa Dra Dilina do Nascimento Marreiro. Após ser esclarecido (a) 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. Em caso de recusa você não será penalizado (a) de forma alguma. Em caso de dúvida você pode procurar o Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal do Piauí pelo telefone (086) 3215-5734.

### DESCRIÇÃO DA PESQUISA

Esta pesquisa tem por objetivo avaliar a concentração de zinco, que participa dos mecanismos de defesa do organismo e é necessário para o funcionamento das enzimas superóxido dismutase em pacientes obesos com e sem síndrome



metabólica (gordura e açúcar o sangue alta, colesterol HDL baixo e aumento da pressão arterial), comparando com pacientes de peso normal. A fim de verificar se a obesidade sozinha ou associada à síndrome metabólica diminui os mecanismos de defesa do organismo (concentração de zinco e das enzimas superóxido dismutase e glutathione peroxidase). Para tanto o voluntário será submetido a coletas de sangue para a análise do mineral-zinco, colesterol HDL, triglicérido, glicemia de jejum, insulina e das enzimas superóxido dismutase e glutathione peroxidase, avaliações antropométricas, da porcentagem de gordura corporal por meio da impedância bioelétrica e a avaliações do consumo alimentar por meio de registros alimentares. Não será realizada entrevista gravada ou filmada.

Ao participar da pesquisa o voluntário não sofrerá nenhum prejuízo, poderá, no entanto sentir leve desconforto em vista da coleta do material biológico, requerido para realização desta. Todos os procedimentos deverão realizar-se junto ao Ambulatório Escola da FACID, cabendo ao voluntário e/ou responsável comparecer à mesma quando for solicitado, em dia e hora a ser estabelecida de acordo com a disponibilidade de ambas as partes (pesquisador e voluntário).

Os participantes do estudo terão como benefícios, além dos resultados dos exames de sangue e dados sobre a composição corporal (porcentagem de gordura corporal e outros), uma dieta nutricional de acordo com a sua necessidade, bem como contribuirão com o entendimento da participação do zinco em doenças relacionadas à obesidade, favorecendo terapias futuras.

Em qualquer etapa do estudo, você terá acesso aos profissionais responsáveis pela pesquisa para esclarecimento de dúvidas. O principal investigador é a Profa Dra Dilina do Nascimento Marreiro, que pode ser encontrada no endereço Campus Universitário Ministro Petrônio Portela, Bairro Ininga, Teresina, Piauí, Brasil; telefone: (86)3215-5863. 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, Teresina, Piauí, Brasil: telefone: (86)3215-5734.

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 um ano, com término previsto para o primeiro semestre de 2010. O participante terá o direito de retirar o consentimento a qualquer tempo, sem que passe por qualquer tipo de constrangimento.

### **CONSENTIMENTO DA PARTICIPAÇÃO DA PESSOA COMO SUJEITO**

Eu, \_\_\_\_\_, RG \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_, CPF \_\_\_\_\_, abaixo assinado, concordo em participar do estudo “Relação entre a zincemia e a atividade das enzimas superóxido dismutase e glutathiona peroxidase em pacientes obesos”, como sujeito. Tive pleno conhecimento das informações que li ou que foram lidas para mim, descrevendo o estudo “Relação entre zincemia e a atividade das enzimas superóxido dismutase e glutathiona peroxidase em pacientes obesos”. Discuti com a Profa Dra Dilina do Nascimento Marreiro sobre a minha decisão em participar nesse estudo. Ficaram claros para mim quais são 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 e que tenho garantia do acesso aos resultados da pesquisa. 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 ou perda de qualquer benefício que possa ter adquirido.

Teresina: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_

---

**Assinatura do sujeito**

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

Testemunhas (não ligadas à equipe de pesquisadores):

Nome: \_\_\_\_\_

RG: \_\_\_\_\_ . Assinatura: \_\_\_\_\_

Nome: \_\_\_\_\_

RG: \_\_\_\_\_ . Assinatura: \_\_\_\_\_

Declaro que obtive de forma apropriada e voluntária o Consentimento Livre e Esclarecido deste sujeito de pesquisa ou representante legal para a participação neste estudo.

Teresina, \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_  
Flávia Ennes Dourado Ferro

\_\_\_\_\_  
Pesquisador responsável:

Dilina do Nascimento Marreiro



**Observações complementares**

\_\_\_\_\_  
Se você tiver alguma consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contato:  
Comitê de Ética em Pesquisa – UFPI - Campus Universitário Ministro Petrônio Portella - Bairro Ininga  
Centro de Convivência L09 e 10 - CEP: 64.049-550 - Teresina - PI  
tel.: (86) 3215-5734 - email: [cep.ufpi@ufpi.br](mailto:cep.ufpi@ufpi.br) web: [www.ufpi.br/cep](http://www.ufpi.br/cep)

## **ANEXOS**

---

## ANEXO A – PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA – UFPI.

 <p>MINISTÉRIO DA SAÚDE Conselho Nacional de Saúde Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP)</p>	<p>UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação Comitê de Ética em Pesquisa - CEP- UFPI REGISTRO CONEP: 045</p> 
--	---

### CARTA DE APROVAÇÃO

O Comitê de Ética em Pesquisa – UFPI, reconhecido pela Comissão Nacional de Ética em Pesquisa – (CONEP/MS) analisou o protocolo de pesquisa:

Título: Relação entre a zincemia e a atividade das enzimas superóxido dismutase e glutathion peroxidase em pacientes obesos.

CAAE (Certificado de Apresentação para Apreciação Ética): 0084.0.045.000-09

Pesquisador Responsável: Dilina do Nascimento Marreiro

Este projeto foi APROVADO em seus aspectos éticos e metodológicos de acordo com as Diretrizes estabelecidas na Resolução 196/96 e complementares do Conselho Nacional de Saúde. Toda e qualquer alteração do Projeto, assim como os eventos adversos graves, deverão ser comunicados imediatamente a este Comitê. O pesquisador deve apresentar ao CEP:

Março/2010 Relatório final

Os membros do CEP-UFPI não participaram do processo de avaliação dos projetos onde constam como pesquisadores.

DATA DA APROVAÇÃO: 27/7/2009

Teresina, 27 de julho de 2009.

  
Prof. Dr. Carlos Ernando da Silva  
Comitê de Ética em Pesquisa – UFPI  
COORDENADOR

