



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ALIMENTOS E NUTRIÇÃO

ASSOCIAÇÃO ENTRE BIOMARCADORES MINERAIS (MAGNÉSIO, SELÊNIO E ZINCO) E O SISTEMA DE DEFESA ANTIOXIDANTE EM MULHERES OBESAS

Teresina - PI

2019

ANA RAQUEL SOARES DE OLIVEIRA

ASSOCIAÇÃO ENTRE BIOMARCADORES MINERAIS (MAGNÉSIO, SELÊNIO E ZINCO) E O SISTEMA DE DEFESA ANTIOXIDANTE EM MULHERES OBESAS

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

Orientadora

Profa. Dra. Dilina do Nascimento Marreiro

Co-orientador

Prof. Dr. Emídio Marques de Matos Neto

TERESINA

2019

ANA RAQUEL SOARES DE OLIVEIRA

ASSOCIAÇÃO ENTRE BIOMARCADORES MINERAIS (MAGNÉSIO, SELÊNIO E ZINCO) E O SISTEMA DE DEFESA ANTIOXIDANTE EM MULHERES OBESAS

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

Aprovada em 04 / 10 / 2019.

Banca examinadora:


- Prof.^a Dr.^a Dilina do Nascimento Marreiro – Orientadora (Presidente)


- Prof. Dr. Francisco das Chagas Alves Lima – Titular


- Prof. Dr. José Miguel Luz Parente – Titular


- Prof.^a Dr.^a Dorcas Lamounier Costa – Titular


- Prof.^a Dr.^a Karoline de Macêdo Gonçalves Frota – Titular

Dedico esta conquista a DEUS, aos meus pais Maria José e Antonio Félix (in memoriam), ao meu esposo Daniel, a minha filha Ana Luiza e afilhada Maria Laura e toda minha família! Dedico este título, em especial, à minha querida orientadora Dilina Marreiro, pela oportunidade concedida e por me guiar durante esta trajetória!

AGRADECIMENTOS

Foi uma longa jornada até aqui, mas DEUS sempre me mostrou o caminho certo, me deu as ferramentas necessárias e colocou na minha vida anjos em forma de pessoas, que foram fundamentais para que eu chegasse a esse momento. Meu DEUS, obrigada por estar sempre iluminando e guiando meus passos com toda a sua bondade e misericórdia infinita e por todas as bênçãos e graças alcançadas em minha vida. Nada seria possível sem a sua presença!

À Universidade Federal do Piauí, por meio do Programa de Pós-graduação em Alimentos e Nutrição (PPGAN), agradeço pela oportunidade de crescimento acadêmico e vivência da docência e pesquisa científica, e ao corpo docente do PPGAN e do departamento de Nutrição, pelos conhecimentos transmitidos. Destaco ainda a importância das professoras Suely Santiago e Marize Santos nessa jornada. Sinto-me orgulhosa de ser UFPI!

À minha turma do PPGAN, por todos os momentos compartilhados e amizades conquistadas.

Aos funcionários do Departamento de Nutrição, sou grata pela atenção, cuidado e disponibilidade em todos os momentos. Lima, Carlos, Maisa, Karol, Gerciane, Thiago, Graça, Gilson e Osvaldo, a minha gratidão!

As queridas Luana e Ianca por nos conduzirem no PPGAN. Agradeço de forma especial a Luana, pela tão querida amizade conquistada e por ser um verdadeiro anjo em minha vida. Serei grata por tudo, Lu!

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

Ao Dr. George Macêdo, em nome do Hospital Gastrovita, pelo apoio para realização deste estudo.

Ao Dr Gustavo Santos, por ter auxiliado no recrutamento das participantes da pesquisa.

À técnica de enfermagem Socorro (Nega), pelo auxílio durante a realização deste estudo.

Ao Prof. Dr. Carlos Henrique Nery, pela excelente parceria firmada durante o Doutorado. Ao professor Vladimir agradeço pelos conhecimentos transmitidos e amizade.

Ao Prof. Dr. Gilberto Simeone, por ter, gentilmente, conduzido as análises de minerais. Obrigada por todo o apoio e atenção!

À Profa. Dra. Carla Soraya, por possibilitar a realização de análises bioquímicas. Um agradecimento especial à Camila e Renata pela valiosa contribuição durante a realização dessas análises.

Ao Laboratório Med Imagem representado pelo bioquímico Francisco Erasmo de Oliveira, pelas contribuições nas análises bioquímicas.

A querida Suelem, pelo auxílio nas análises e interpretação dos dados estatísticos.

À família CAPS, agradeço pelo acolhimento e apoio necessário durante esta trajetória.

A todas as mulheres que participaram da pesquisa. Obrigada pela confiança e colaboração, o que tornou possível a realização desse trabalho.

Aos professores da Banca Examinadora, que aceitaram participar e contribuir para o aprimoramento desta tese. Prof. Dr. Francisco, Prof. Dr. José Miguel, Profa. Dra. Dorcas Lamounier, e Profa. Dra. Karoline Frota obrigada por suas sugestões e críticas, as quais aperfeiçoaram este trabalho e ainda por disponibilizarem o tempo precioso de vocês para compartilhar comigo este momento. Me sinto honrada!

Às amigas que conquistei ao longo da Pós-graduação. Obrigada pelo apoio nessa caminhada!

Destaco a partir de agora, pessoas essenciais à condução da pesquisa e durante a Pós-graduação:

A minha querida orientadora e amiga Profa. Dra. **Dilina do Nascimento Marreiro**, toda minha gratidão. A senhora é um exemplo, lhe admiro não somente pela profissional que é, mas principalmente por ser honesta, ética, verdadeira e

compartilhadora. Para mim, a senhora é a melhor de todas, pela grandeza do seu coração. Não canso de agradecer as oportunidades que me deu desde a graduação, quando tive o privilégio de ser sua bolsista de iniciação científica. Obrigada pelo incentivo, por todo o carinho, pela amizade, dedicação e acima de tudo pela paciência em transmitir seus conhecimentos e contribuir para o meu crescimento profissional e pessoal. Obrigada por ser essa orientadora atenciosa e sempre disposta a ajudar! Serei sempre grata por todos esses anos de convivência e aprendizado. Simplesmente, **obrigada por tudo!** Amo você! Obrigada ainda por nos permitir desfrutar do convívio com sua família, em especial, a querida Valentina e Prof. Luiz Cláudio!

Ao meu coorientador Prof. Dr. Emídio Marques de Matos Neto, pela amizade, ensinamentos e contribuições para realização desta pesquisa e por oportunizar meu crescimento acadêmico.

A minha amiga-irmã-afilhada e parceira de pesquisa **Kyria Cruz**. Obrigada pelo convívio maravilhoso, pelas palavras certas nos momentos em que mais precisei, pelas longas conversas sobre os mais diversos temas que sempre me ajudaram a ver tudo de outra forma, pela pessoa que você é, pelo que representa em minha vida e por tornar-se família. Agradeço a Deus por ter colocado você no meu caminho para multiplicar as alegrias e dividir as angústias e dificuldades. Obrigada por segurar firme a minha mão e juntas enfrentarmos essa longa jornada! Olha aonde chegamos, amiga! Todos os nossos sonhos que pareciam tão distantes tem se tornado realidade! Que Deus continue sendo nosso guia e iluminando nossos caminhos! Obrigada, pois sem você nada disso seria possível! Amo você!!!

A minha amiga **Jennifer**, minha filhota na pesquisa. A quem eu admiro e tenho um enorme carinho. Obrigada por fazer os nossos dias mais alegres com sua alegria contagiante e por toda força e torcida positiva! Obrigada ainda por sua contribuição nas coletas, análises e discussões científicas durante esse caminhar!! Obrigada pelo simples fato de existir! Te amo, minha nega!

A minha neném *Stefany*, por estar presente em todos os momentos. Agradeço ainda pelo carinho e consideração a mim destinados. Obrigada pelo nosso convívio e pela sua contribuição em todas as etapas desta trajetória. Que Deus ilumine seus caminhos! Minha gratidão será eterna! Amo você!

A minha Lolo (*Loanne*), por contribuir em diversas etapas da minha trajetória acadêmica. Agradeço ainda pelo amor e consideração a mim destinados. Obrigada pelo nosso convívio e pela sua presença em minha vida. Que Deus te abençoe inifitamente! Simplesmente, obrigada! Te amo!

A querida *Islanne*, que me acompanhou durante as análises em Fortaleza. Obrigada pela hospitalidade e contribuição. Agradeço ainda a oportunidade de conhecer uma pessoa incrivelmente do bem, que cativa e cuida de todos. Obrigada por tudo!

A querida *Karoline Brito*, que com sua alegria cativante nos ajudou durante as análises realizadas no Laboratório de Fisiologia. Agradeço a professora *Maria do Carmo* por permitir a condução dessas análises.

Aos meus queridos colaboradores, alunos e amigos *Diana*, *Mickael*, *Thayane*, *Mariana*, *Gleyce* e *Vanessa* pela importante contribuição em todas as etapas deste trabalho. Não teria sido possível sem a colaboração de cada um de vocês. Obrigada por todo o carinho, apoio e amizade!

À família *LANEX*, hoje representada por *Jennifer*, *Larissa*, *Stéfany*, *Loanne*, *Bruna*, *Thamires*, *Thaline*, *Daniele*, *Gilmara*, *Regina*, *Marcelo*, *Nilmara*, *Mávia*, *Mariana* e *Lyandra* pelo carinho e apoio. Vocês foram verdadeiros anjos e fizeram com que a jornada fosse mais leve e feliz! Obrigada!

De forma especial gostaria de agradecer a pessoas que em alguns momentos tornaram-se essenciais para que este sonho se concretizasse, das quais destaco *Jessica Batista*, *Juliana Severo*, *Bruna*, *Tamires Soares*, *Thaline Dias*, *Mariana* e *Nilmara*. Obrigada ainda pela amizade, carinho e apoio. Sem vocês, não teria conseguido. Muito obrigada por tudo!!!

A todos os meus amigos, pelo apoio e incentivo em todos os momentos. Obrigada por fazerem parte da minha vida!!! Em especial agradeço a Amanda Marreiro, Adriana Bandeira, Andréia Virgino, Bruna Teles, Jael Alves, Jaudimar, Jussara Rego, Joana Santos, Juliana Oliveira, Luana Mota, e Sueli Lima pela amizade, pelos ensinamentos, incentivo e apoio em todos os momentos. Obrigada por fazerem parte da minha vida!!!

Aos meus pais, Antonio Félix (*in memoriam*) e Maria José, pelos ensinamentos, pelo apoio e amor incondicional que tive em toda a minha vida. Meu pai, que sempre fez de tudo para proporcionar o melhor para seus filhos, homem determinado e dedicado a família, e minha mãe pela mulher forte e amorosa, que sempre me levou para os caminhos de Deus e que com sua fé me motiva sempre a lutar. Amarei vocês eternamente!!!

Ao meu esposo Daniel Morais e minha filha Ana Luiza, pelo amor, pelo companheirismo e carinho. Muito obrigada por tudo, meus amores, e acima de tudo por compreenderem os momentos de ausência. Vocês são muito especiais para mim!!! Obrigada por incentivarem a realização dos meus sonhos. Amo muito vocês!!! Agradeço, ainda, aos meus sogros, que me apoiaram nessa conquista e pelos cuidados destinados a mim e minha filha.

Aos meus queridos e amados irmãos João, José, Rita, Pedro, Francisca, Paulo, Rosália, Gilcimar, Leide e Daniel, pelo amor, companheirismo e apoio durante esta fase. Vocês são muito especiais e indispensáveis na minha vida!!! As minhas comadres e minha afilhada Maria Laura pelo apoio, companhia e por tornarem os meus dias mais alegres.

A toda minha família, por ser a melhor família do mundo. Obrigada pelo apoio constante. Amo vocês!!!

Considero que nesse breve texto seja impossível agradecer a todas as pessoas que merecem a minha gratidão. Dessa forma, a todos que, direta ou indiretamente contribuíram para a conquista desse título, peço a Deus que abençoe e recompense. A minha eterna gratidão!

“Tudo posso naquele que me fortalece!”

Filipenses 4:13

“Tu és o meu Deus, graças te darei!

Ó meu Deus, eu te exaltarei! Dêem graças ao Senhor, porque ele é bom;

O seu amor dura para sempre.”

Salmos 118:28-29

RESUMO

OLIVEIRA, A. R. S. **Associação entre biomarcadores minerais (magnésio, selênio e zinco) e o sistema de defesa antioxidante em mulheres obesas.** 2019. Tese - Programa de Pós-graduação em Alimentos e Nutrição, Universidade Federal do Piauí, Teresina-PI.

INTRODUÇÃO: A literatura tem relatado deficiência em magnésio, selênio e zinco em indivíduos com obesidade, com prejuízo na realização de suas funções fisiológicas, o que parece comprometer o sistema de defesa antioxidante endógeno em organismos obesos. **OBJETIVO:** Avaliar a associação entre biomarcadores minerais (magnésio, selênio e zinco) e o sistema de defesa antioxidante em mulheres obesas. **MATERIAIS E MÉTODOS:** Estudo transversal envolvendo mulheres que foram distribuídas em dois grupos: mulheres com índice de massa corpórea ≥ 35 kg/m² (obesas) e mulheres com índice de massa corpórea entre 18,5 e 24,9 kg/m² (eutróficas). Este estudo é um recorte do projeto “Impacto de minerais em distúrbios endócrino-metabólicos”. Foram conduzidas determinações de parâmetros do controle glicêmico e lipídios séricos. Os índices *Homeostasis Model Assessment Insulin Resistance* e *Homeostasis Model Assessment* - β foram calculados. As análises de cortisol sérico, leptina plasmática, concentrações plasmáticas de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico, atividade das enzimas superóxido dismutase, glutathiona peroxidase e catalase nos eritrócitos foram realizadas. A análise da ingestão de energia, macronutrientes, magnésio, selênio e zinco e a determinação das concentrações plasmáticas, eritrocitárias e urinárias destes minerais foram conduzidas. Os dados foram analisados por meio do programa estatístico R. **RESULTADOS:** Foram incluídas 140 mulheres (63 obesas e 77 eutróficas), com idade média respectivamente de $34,30 \pm 8,29$ e $35,22 \pm 7,95$ anos. Os valores médios do índice de massa corporal foram $41,50 \pm 5,94$ e $22,39 \pm 5,94$ 35 kg/m² para mulheres com obesidade e eutróficas, respectivamente ($p < 0,05$). As mulheres com obesidade possuíam concentrações plasmáticas e eritrocitárias de magnésio, selênio e zinco reduzidas e valores de excreção urinária aumentados, quando comparadas ao grupo de eutróficas ($p < 0,05$). As participantes obesas apresentaram concentrações plasmáticas elevadas de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico e atividade reduzida da enzima superóxido dismutase nos eritrócitos ($p < 0,05$). O estudo revelou associação positiva entre as concentrações eritrocitárias de zinco e selênio e a atividade das enzimas glutathiona peroxidase e superóxido dismutase eritrocitárias nas mulheres obesas ($p < 0,05$). Além disso, a análise de regressão identificou associação positiva entre a insulina sérica e a enzima glutathiona peroxidase, sendo esta dependente do selênio dietético ($p < 0,05$). **CONCLUSÃO:** A associação identificada entre a deficiência em minerais (selênio e zinco) e os marcadores antioxidantes sugere prejuízo da contribuição destes micronutrientes no sistema de defesa antioxidante e na atenuação de vias pró-oxidantes nas mulheres com obesidade avaliadas, induzindo o estresse oxidativo.

Palavras-chave: Obesidade. Antioxidantes. Estresse Oxidativo. Magnésio. Selênio. Zinco.

ABSTRACT

OLIVEIRA, A. R. S. **Association between mineral biomarkers (magnesium, selenium and zinc) and antioxidant defense system in obese women.** 2019. Thesis - Postgraduate Program in Food and Nutrition, Federal University of Piauí, Teresina-PI.

INTRODUCTION: The literature has reported magnesium, selenium and zinc deficiency in obese individuals. This deficiency impairs physiological functions of these minerals, which seems to impair the endogenous antioxidant defense system in obese organisms. **OBJECTIVE:** To evaluate the association between mineral biomarkers (magnesium, selenium and zinc) and the antioxidant defense system in obese women. **MATERIALS AND METHODS:** Cross-sectional study involving women who were divided into: women with body mass index ≥ 35 kg/m² (obese) and women with body mass index between 18.5 and 24.9 kg/m² (eutrophic). This study is part of the project "Impact of minerals on endocrine-metabolic disorders". Determinations of glycemic control and serum lipid parameters were conducted. Homeostasis Model Assessment Insulin Resistance and e Homeostasis Model Assessment - β indices were calculated. Serum cortisol, plasma leptin, plasma concentrations of thiobarbituric acid reactive substances, activity of the superoxide dismutase, glutathione peroxidase, and catalase erythrocyte enzymes were performed. Analysis of energy intake, macronutrients, magnesium, selenium and zinc and the determination of plasma, erythrocyte and urinary concentrations of these minerals were conducted. Data were analyzed using the R statistical program. **RESULTS:** A total of 140 women (63 obese and 77 eutrophic) were included, with an average age of 34.30 ± 8.29 and 35.22 ± 7.95 years, respectively. The mean body mass index values were 41.50 ± 5.94 and 22.39 ± 5.94 35 kg/m² for obese and eutrophic women, respectively ($p < 0.05$). Obese women had reduced plasma and erythrocyte concentrations of magnesium, selenium and zinc and increased urinary excretion when compared to the control group ($p < 0.05$). Obese participants had higher plasma concentrations of thiobarbituric acid reactive substances and lower activity of the enzyme superoxide dismutase in erythrocytes ($p < 0.05$) than eutrophic women. The study revealed a positive association between erythrocyte concentrations of zinc and selenium, and the activity of the enzymes glutathione peroxidase and erythrocyte superoxide dismutase in obese women ($p < 0.05$). In addition, regression analysis identified a positive association between serum insulin and glutathione peroxidase enzyme, which is dependent on dietary selenium ($p < 0.05$). **CONCLUSION:** The association between mineral deficiency (selenium and zinc) and antioxidant markers suggests impairment of the contribution of these micronutrients to the antioxidant defense system and attenuation of pro-oxidant pathways in the obese women evaluated, inducing oxidative stress.

Keywords: Obesity. Antioxidants. Oxidative Stress. Magnesium. Selenium. Zinc.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 01 – Implicações da disfunção do tecido adiposo	24
Figura 02 – Implicações da disfunção do tecido adiposo com ênfase no estresse oxidativo	28
Figura 03 – Via de sinalização do fator de transcrição nuclear eritroide associado ao fator 2	32
Figura 04 – Impacto da deficiência em magnésio na manifestação do estresse oxidativo na obesidade.....	36
Figura 05 – Impacto da deficiência em selênio na manifestação do estresse oxidativo na obesidade.....	40
Figura 06 – Impacto da deficiência em zinco na manifestação do estresse oxidativo na obesidade.....	44
Figura 07 – Fluxograma dos procedimentos realizados com as participantes do estudo	49

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

- ATP** – Adenosina trifosfato
- BAI** – *Body adiposity index (Índice de adiposidade corporal)*
- BCI** – *Body circularity index (Índice de circularidade corporal)*
- BSI** - *Body Shape Index (Índice de forma corporal)*
- CI** – *Conicity index (Índice de conicidade)*
- Cul3-Rbx1** – *E3-ubiquitin ligase complex/Ring box protein 1*
- GPX** – Glutaciona peroxidase
- GSSG** - Dissulfeto de glutaciona
- HC** – *Hip circumference (Circunferência do quadril)*
- HDL** - Lipoproteína de alta densidade
- HOMA-IR** - *Homeostasis Model Assessment Insulin Resistance* (modelo de avaliação homeostático de resistência insulínica)
- HOMA- β** - *Homeostasis Model Assessment - β*
- IMC** - Índice de massa corpórea
- KEAP 1** – *Kelch-like ECH-associated Protein*
- LDL** - Lipoproteína de baixa densidade
- Mg** - Magnésio
- NADH** – Dinucleótido de nicotinamida e adenina
- NADPH oxidase** - Nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato oxidase
- NC** – *Neck circumference (Circunferência do pescoço)*
- NF- κ B** - Fator nuclear kappa B
- NLRP3** - *Nucleotide-binding domain, leucine-rich-containing family, pyrin domain-containing-3.*
- NMDA** - N-metil-D-aspartato
- Nrf2** - Fator nuclear eritróide 2 relacionado ao fator 2
- PPAR- α** - Receptor alfa ativado por proliferadores de peroxissomas
- Se** - Selênio
- SMAF** – *Small músculo aponeurotic fibrosarcoma*
- TBARs** - Substâncias reativas ao tiobarbitúrico
- TNF- α** - Fator de necrose tumoral α
- TRPM6** - Receptor de potencial transitório do tipo melastatina tipo 6
- VAI** – *Visceral Adiposity Index (Índice de adiposidade visceral)*

VIGITEL - Vigilância de fatores de risco e proteção para doenças crônicas por inquérito telefônico

VLDL - Lipoproteína de muito baixa densidade.

WC – *Waist circumference* (Circunferência da cintura)

WHR – *Waist/Height Ratio* (*Razão cintura/estatura*)

ZIP - *Zrt-and Irt-like protein*

Zn- Zinco

ZnT - *Zinc transporter*

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	17
2 REFERENCIAL TEÓRICO	20
2.1 Implicações Metabólicas do Excesso de Tecido Adiposo	21
2.1.2 Implicações da Disfunção do Tecido Adiposo com Ênfase no Estresse Oxidativo	24
2.2 Sistema de Defesa Antioxidante	29
2.3 Deficiência em Magnésio, Selênio e Zinco na Obesidade: Repercussões sobre o Estresse Oxidativo	32
2.3.1 Deficiência em Magnésio na Obesidade	32
2.3.1.1 Impacto da Hipomagnesemia no Estresse Oxidativo	33
2.3.2 Deficiência em Selênio na Obesidade.....	36
2.3.2.1 Impacto da Hiposelenemia no Estresse Oxidativo	38
2.3.3 Deficiência em Zinco na Obesidade.....	40
2.3.3.1 Impacto da Hipozincemia no Estresse Oxidativo	41
3 OBJETIVOS	45
3.1 Objetivo Geral	46
3.2 Objetivos Específicos	46
4 MATERIAIS E MÉTODOS	47
4.1 Caracterização do Estudo e Protocolo Experimental	48
4.2 Avaliação Antropométrica	49
4.2.1 Peso Corporal e Estatura	50
4.2.2 Índice de Massa Corpórea	50
4.2.3 Circunferência da Cintura.....	50
4.2.4 Circunferência do Quadril.....	51
4.2.5 Relação Cintura-Quadril	51
4.2.6 Circunferência do Pescoço.....	51
4.2.7 Relação Cintura-Estatura	51
4.2.8 Índice de Conicidade	52
4.2.9 Índice de Formato Corporal	52
4.2.10 Índice de Circularidade Corporal.....	52
4.2.11 Índice de Adiposidade Corporal.....	53
4.2.12 Índice de Adiposidade Visceral	53

4.3 Avaliação do Consumo Alimentar	53
4.3.1 Análise dos Dados Dietéticos	54
4.4 Coleta do Material Biológico	57
4.5 Determinação dos Parâmetros Bioquímicos dos Minerais	57
4.5.1 Controle da Contaminação e Preparo dos Reagentes	57
4.5.2 Separação dos Componentes do Sangue	57
4.5.3 Determinação dos Parâmetros Bioquímicos do Magnésio, Selênio e Zinco	58
4.5.4 Determinação da Concentração de Hemoglobina	59
4.6 Determinação da Atividade de Enzimas Antioxidantes	59
4.7 Determinação das Concentrações Plasmáticas de Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico	60
4.8 Determinação de Parâmetros do Controle Glicêmico	61
4.8.1 Concentração Sérica de Glicose de Jejum	61
4.8.2 Concentração Sérica de Insulina	61
4.8.3 Concentração Plasmática de Hemoglobina Glicada	61
4.8.4 Caracterização da Resistência à Insulina	61
4.9 Determinação do Perfil Lipídico	62
4.10 Determinação das Concentrações Séricas de Cortisol e Leptina	62
4.11 Análise Estatística	62
4.11.1 Tratamento a dados faltantes	62
4.11.2 Análise dos Dados	63
4.12 Apresentação dos Resultados	64
REFERÊNCIAS	65
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	82
5.1 Capítulo 1 - Artigo Científico: Impacto da Deficiência dos Minerais (magnésio, selênio e zinco) no Sistema de Defesa Antioxidante em Mulheres Obesas	83
5.1.1 Resumo	85
5.1.2 Introdução	87
5.1.3 Métodos	88
5.1.4 Resultados	94
5.1.5 Discussão	102
5.1.6 Conclusão	105
5.1.7 Referências	106

5.2 Capítulo 2 - Artigo Científico: Association between Selenium Status and Oxidative Stress in Obese Women: Influence of Body and Visceral Adiposity	112
5.2.1 Abstract	115
5.2.2 Introduction.....	116
5.2.3 Methods.....	117
5.2.4 Results	120
5.2.5 Discussion	124
5.2.6 Conclusion.....	126
5.2.7 References	127
5.3 Capítulo 3 - Artigo Científico: Association Between Magnesium and Oxidative Stress in Patients with Obesity	132
5.3.1 Abstract	134
5.3.2 Introduction.....	134
6 CONCLUSÃO	135
ANEXOS	137
APÊNDICES	144

Introdução

1 INTRODUÇÃO

A obesidade é uma doença crônica caracterizada pelo acúmulo excessivo de gordura corporal devido ao balanço energético positivo prolongado. A patogênese desta doença é complexa e envolve fatores ambientais, socioculturais, fisiológicos e comportamentais, genéticos e epigenéticos, que contribuem para o seu desenvolvimento e progressão (GADDE et al., 2018; HEYMSFIELD et al., 2017; WHO, 2018).

Dados sobre a prevalência de obesidade revelam que aproximadamente 1,9 bilhões de adultos apresentam excesso de peso, sendo destes, 600 milhões, com obesidade, o que corresponde a 13% da população mundial adulta (WHO, 2016). No Brasil, o sistema Vigitel (Vigilância de fatores de risco e proteção para doenças crônicas por inquérito telefônico) mostra que a proporção de brasileiros com excesso de peso variou nas capitais entre 47,2% e 60,7%, e a proporção de obesos entre 15,7% e 23,0% (BRASIL, 2019).

Diversas pesquisas têm sido conduzidas na perspectiva de esclarecer as alterações metabólicas presentes em indivíduos com obesidade. Os estudos atuais têm mostrado que o estresse oxidativo, por exemplo, estimula o surgimento de inflamação crônica de baixo grau, e, conseqüentemente, doenças metabólicas, como hipertensão arterial sistêmica, diabetes *mellitus* tipo 2 e câncer (LONGO et al., 2019; TANGVARASITTICHAJ; PONGTHAISONG; TANGVARASITTICHAJ, 2016; ZHANG et al., 2015).

O estresse oxidativo é definido como um desequilíbrio entre a produção de espécies reativas de oxigênio e a defesa antioxidante, sendo implicado em eventos potencialmente danosos, como a peroxidação lipídica, dano oxidativo ao DNA e desregulação de transdução de sinal intracelular (CASTRO et al., 2014; WAROLIN et al., 2014). No entanto, os mecanismos envolvidos na manifestação de tal desordem na obesidade ainda não estão completamente esclarecidos.

Nesse sentido, estudos sobre o tema mostram o envolvimento da inflamação crônica de baixo grau, de microRNAs e enzimas pró-oxidantes. De forma simultânea, a redução na atividade de enzimas do sistema de defesa antioxidante endógeno e alterações observadas no metabolismo de vitaminas e minerais também contribuem para a indução do estresse oxidativo nessa doença (AMIRKHIZI et al., 2014; GUERRERO et al., 2016; SARMIENTO et al., 2014; ZHOU et al., 2015).

Destaca-se que dados oriundos de publicações de autores participantes do nosso grupo de pesquisa demonstraram existência de deficiências nutricionais em indivíduos obesos, em particular, dos minerais magnésio, selênio e zinco (BESERRA et al., 2019; CRUZ et al., 2014; FEITOSA et al., 2019). Estes nutrientes destacam-se por suas funções antioxidante, anti-inflamatória, e sensibilizadora da ação da insulina. Assim, a deficiência nesses minerais constitui fator contribuinte importante para acentuar a manifestação de desordens metabólicas, como o estresse oxidativo (CRUZ et al., 2014; MORAIS et al., 2017; OLIVEIRA et al., 2015).

Nessa perspectiva, diante de evidências do comprometimento nutricional de micronutrientes em indivíduos obesos, bem como da importância destes na proteção e/ou controle de alterações metabólicas e clínicas associadas ao excesso de peso, torna-se evidente a necessidade da realização de pesquisas que possam melhor fundamentar o papel desses nutrientes na modulação contra o estresse oxidativo na obesidade.

Assim, percebe-se que avanços na análise de marcadores mais robustos tanto para melhor avaliar o sistema de defesa antioxidante, quanto para identificar a provável relação entre este e os minerais, pode auxiliar na definição de possíveis estratégias de intervenção terapêutica no controle metabólico desses pacientes. Dessa forma, a hipótese do presente estudo é que a deficiência em magnésio, selênio e zinco na obesidade constitui fator comprometedor do sistema de defesa antioxidante.

Referencial Teórico

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Implicações Metabólicas do Excesso de Tecido Adiposo

O tecido adiposo é constituído por adipócitos e outros tipos de células, tais como pré-adipócitos, linfócitos, macrófagos, células endoteliais e fibroblastos, que são importantes para seu funcionamento (MARSEGLIA et al., 2015). Esse tecido é considerado um órgão endócrino complexo e dinâmico com função importante na homeostase corporal (MRAZ; HALUZIK, 2014; UNAMUNO et al., 2018).

De forma mais específica, os adipócitos constituem células secretoras metabolicamente ativas, que liberam adipocinas envolvidas em processos metabólicos, hormonais e imune, a exemplo da regulação do apetite, função inflamatória, metabolismo lipídico e glicídico, homeostase cardiovascular, entre outras funções fisiológicas (UNAMUNO et al., 2018).

Em situação de balanço energético positivo, ocorre expansão do tecido adiposo por meio de hiperplasia e/ou hipertrofia dos adipócitos. A hiperplasia envolve a formação de novos adipócitos pequenos, a partir da diferenciação de pré-adipócitos, sendo esse processo conhecido por adipogênese. A expansão hipertrófica, por sua vez, é decorrente do incremento no conteúdo lipídico celular, com consequente aumento no tamanho dos adipócitos preexistentes (ARNER; KULYTÉ, 2015; GHABEN; SCHERER, 2019).

A expansão excessiva do tecido adiposo induz ao desequilíbrio dos mecanismos homeostáticos adaptativos, levando à disfuncionalidade deste tecido. Tal processo se caracteriza por alterações na composição celular, com predominância de hipertrofia dos adipócitos e infiltração de células imunes inflamatórias, bem como por comprometimento da angiogênese, hipóxia, fibrose local, aumento na secreção de citocinas pró-inflamatórias e estresse oxidativo (GREGOR; HOTAMISLIGIL, 2011; LAY et al., 2014; MORENO-INDIAS; TINAHONES, 2015; TRAYHURN, 2013; UNAMUNO et al., 2018).

Nesse contexto, a hipertrofia dos adipócitos aumenta os componentes da matriz extracelular e induz ao estresse mecânico devido ao aumento no diâmetro de adipócitos e no contato entre estas células. Isso reduz a densidade capilar e o fluxo sanguíneo tecidual, reduzindo as concentrações de oxigênio e favorecendo a manifestação de hipóxia no tecido adiposo de obesos (TRAYHURN, 2013). A resposta

hipóxica do tecido adiposo, mediada pelo fator induzido por hipóxia 1, torna-se insuficiente para induzir à vascularização e, como resultado, ocorre aumento na expressão de genes pró-fibróticos, e conseqüentemente fibrose deste tecido (GHABEN; SCHERER, 2019).

Ressalta-se que a fibrose do tecido adiposo é caracterizada pela desregulação do processo de remodelação da matriz extracelular, em particular dos ciclos de quebra/redeposição de colágeno, o que induz ao depósito excessivo de colágeno e outros componentes da matriz extracelular. Esse processo limita a capacidade de expansão do adipócito (DENIS; OBIN, 2013; HENEGAR et al., 2008).

Quando a capacidade de expansão do tecido adiposo subcutâneo é excedida, os lipídios passam a ser estocados no compartimento intra-abdominal (visceral) e de forma ectópica no organismo (fígado, coração, rim, pâncreas e músculos), o que também caracteriza a disfunção metabólica. Assim, o acúmulo de tecido adiposo na região abdominal está associado ao desenvolvimento de inflamação crônica de baixo grau, alterações endócrinas e estresse oxidativo (GOOSSENS, 2017; MANNA; JAIN, 2015).

Sobre a inflamação do tecido adiposo disfuncional, a hipertrofia dos adipócitos associada à elevada produção de leptina e proteína quimiotática de monócitos-1 favorecem a multiplicação das células imunes locais. Em particular, a proliferação das células *natural killer* e dos linfócitos T CD8+, induz à secreção de interferon- γ , o que estimula a troca de macrófagos M2 (anti-inflamatórios) por M1 (pró-inflamatórios) (APOSTOLOPOULOS et al., 2016; MAURIZI et al., 2017; WENSVEEN et al., 2015).

Os sinais que regulam o recrutamento de macrófagos M1 para o tecido adiposo envolvem a secreção de quimiocinas específicas (proteína quimioatraente de monócitos 1, leucotrieno B4, fractalina e netrina- 1) e a ativação de receptores padrão de reconhecimento, como o inflamassoma NLRP3 (*nucleotide-binding domain, leucine-rich-containing family, pyrin domain-containing-3*). Tal fato, aumenta a produção de interleucina-1 β e interleucina-18 via ativação de caspase-1 em macrófagos M1, sendo estes os principais mecanismos de recrutamento de macrófagos para o tecido adiposo (UNAMUNO et al., 2018).

Durante a expansão disfuncional do tecido adiposo, o aumento da razão entre linfócitos T auxiliares 1/células T reguladoras naturais e linfócitos T auxiliares 1/T auxiliares 2 também parece favorecer a manifestação do fenótipo de macrófagos M1 (UNAMUNO et al., 2018). Portanto, a mudança de fenótipo dos macrófagos contribui

para a progressão da inflamação no tecido adiposo branco, pois intensifica o recrutamento de mais células imunes com perfil inflamatório para este tecido, culminando no quadro sistêmico de inflamação crônica de baixo grau, característico da obesidade (APOSTOLOPOULOS et al., 2016; MAURIZI et al., 2017; WENSVEEN et al., 2015). As células T helper 1 no tecido adiposo visceral de indivíduos obesos podem contribuir ainda para a ativação de células inflamatórias locais anteriormente à infiltração de macrófagos, sugerindo papel importante para estas células na iniciação e manutenção da inflamação do tecido adiposo (UNAMUNO et al., 2018).

A obesidade disfuncional também tem sido associada às modificações nas concentrações, padrões de secreção e *clearance* de vários hormônios (FONTENELLE et al., 2018; TRAYHURN, 2013). Nesse contexto, destaca-se que a hiperleptinemia e a resistência à ação desse hormônio em tecidos periféricos favorece o desenvolvimento da resistência à insulina, bem como favorecem aumento da pressão arterial, da produção de moléculas pró-inflamatórias e de espécies reativas de oxigênio (KNIGHT et al., 2010; KNOBELSPIES et al., 2010).

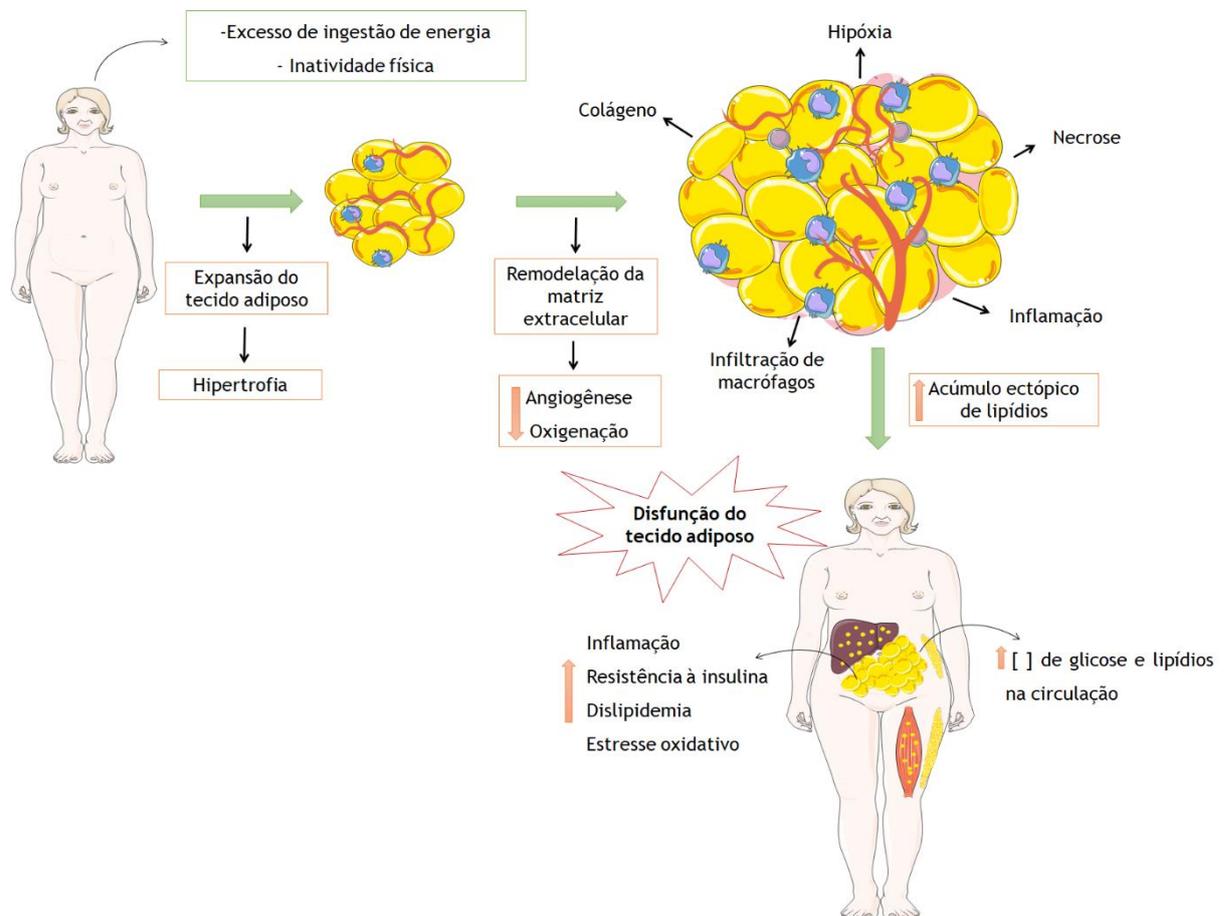
O estresse oxidativo sistêmico constitui outra desordem presente na obesidade disfuncional, devido desbalanço entre a produção de espécies reativas de oxigênio e a capacidade antioxidante, conduzindo a uma interrupção da sinalização e controle redox e/ou dano molecular. Este distúrbio pode ser classificado de acordo com a intensidade, variando do estresse oxidativo fisiológico (*eustress*) à carga oxidativa tóxica (*disestress*), que prejudica a sinalização redox e promove danos a biomoléculas, com consequências fisiopatológicas (IGHODARO; AKINLOYE, 2018; SIES, 2018).

O acúmulo de espécies reativas induz a danos ao DNA, incluindo mutações pontuais e aberrações cromossômicas, bem como ativa vias de tradução de sinais, alterando a expressão de diversos genes (MATOUŠKOVÁ; HANOUSKOVÁ; SKÁLOVÁ, 2018). A cronicidade desse processo promove a peroxidação dos lipídios de membrana e agressão às proteínas de tecidos, contribuindo para a patogênese de diversas doenças metabólicas (HAHN; OLIVEIRA, BOCK, 2016; TAN; NORHAIZAN; LIEW, 2018).

Sobre tal distúrbio, diversos estudos já demonstraram que a hipertrofia de adipócitos aumenta a secreção de citocinas pró-inflamatórias e adipocinas, principal fator contribuinte para a produção excessiva de espécies reativas de oxigênio e nitrogênio em organismos obesos (FERNÁNDEZ-SÁNCHEZ et al., 2011; LAY et al.,

2014). Além da inflamação, a hiperlipidemia, hiperglicemia e hiperleptinemia destacam-se como fatores que contribuem para a manifestação dessa desordem. Diversos estudos têm mostrado correlação positiva entre o índice de massa corpórea e parâmetros do estresse oxidativo (CELIK et al., 2013; MANNA; JAIN, 2015; PARK et al., 2013; SAVINI et al., 2013; WAROLIN et al., 2014; ZHANG et al., 2015). A figura 01 mostra as implicações da disfunção do tecido adiposo.

Figura 01 – Implicações da disfunção do tecido adiposo.



Fonte: Adaptado de Ghaben e Scherer (2019).

2.1.1 Implicações da Disfunção do Tecido Adiposo com Ênfase no Estresse Oxidativo

Alguns mecanismos têm sido propostos para fundamentar a contribuição da inflamação crônica de baixo grau na gênese do estresse oxidativo. O excesso de tecido adiposo estimula a infiltração de macrófagos e a produção de citocinas pró-inflamatórias, induzindo aumento da respiração celular e, conseqüentemente, da produção de espécies reativas de oxigênio e nitrogênio, como o ânion superóxido,

peróxido de hidrogênio, hidroxila e óxido nítrico (MURER et al., 2014; VIEIRA-POTTER, 2014; ZHANG et al., 2015).

Estudo conduzido por Tangvarasittichai; Pongthaisong e Tangvarasittichai (2016) verificou relação entre o aumento nas concentrações séricas de proteína C reativa, citocinas pró-inflamatórias (fator de necrose tumora - α (TNF- α) e IL-6), menor capacidade antioxidante, resistência à insulina (*Homeostasis Model Assessment Insulin Resistance* - HOMA-IR) e o risco de diabetes *mellitus* tipo 2 em indivíduos com obesidade abdominal. Segundo os autores, a secreção elevada dessas citocinas pelo tecido adiposo parece constituir fator importante para a geração do estresse oxidativo e resistência à insulina nesses indivíduos.

Nessa mesma perspectiva de obter conhecimento sobre a contribuição das implicações metabólicas do tecido adiposo na indução do estresse oxidativo, destaca-se que os adipócitos da gordura visceral possuem maior densidade de receptores β 3-adrenérgicos, sendo esses mais sensíveis à lipólise, o que permite maior liberação de ácidos graxos livres no plasma, com posterior oxidação destes substratos na mitocôndria. Tal fato aumenta a atividade de enzimas pró-oxidantes na cadeia transportadora de elétrons, contribuindo para a geração de espécies reativas de oxigênio (FERNÁNDEZ-SÁNCHEZ et al., 2011; LAY et al., 2014; MARSEGLIA et al., 2015).

Nesse sentido, o excesso de ácidos graxos em diversos tecidos aumenta a carga de oxidação mitocondrial e peroxissomal, fator contribuinte para a ocorrência de danos mitocondriais e prejuízo na sinalização redox celular, moléculas mensageiras em via de sinalização. Como resultado, surge a disfunção mitocondrial que é caracterizada pelo excesso de geração de espécies reativas de oxigênio nesse compartimento celular (FERNÁNDEZ-SÁNCHEZ et al., 2011; LAY et al., 2014; SIES, 2018).

Associado a isso, o aumento nas concentrações de triacilgliceróis nos tecidos, decorrente da ingestão excessiva de nutrientes e da taxa reduzida de beta-oxidação, inibe o transportador de nucleotídeos de adenina na mitocôndria, comprometendo o retorno de adenosina difosfato, substrato necessário para formação de adenosina trifosfato (ATP) durante a fosforilação oxidativa. Tal fato interrompe a cadeia transportadora de elétrons, conseqüentemente, gerando ânion superóxido (BONDIA-PONS et al., 2012; FERNÁNDEZ-SÁNCHEZ et al., 2011; LAY et al., 2014; SIES, 2018).

Na obesidade, a hiperlipidemia também favorece aumento da expressão de enzimas regulatórias do sistema redox no tecido adiposo, como a óxido nítrico sintase, xantina oxidase e a NADPH oxidase (*Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate Oxidase*). A óxido nítrico sintase, em particular, apresenta duas isoformas importantes: endotelial e induzível, as quais parecem ter relação direta com o estresse oxidativo presente na obesidade (ROCHETTE et al., 2013; XIA et al., 2016).

A enzima óxido nítrico sintase induzível aumenta a síntese de óxido nítrico que pode reagir com o ânion superóxido e formar o peroxinitrito, o que evidencia a sua participação na disfunção mitocondrial e geração de espécies reativas de oxigênio (XIA et al., 2016). No que diz respeito à óxido nítrico sintase endotelial, pela deficiência de seu cofator em organismos obesos, ocorre comprometimento da produção de óxido nítrico nos vasos sanguíneos, o que leva à produção de ânion superóxido (ROCHETTE et al., 2013; XIA et al., 2016).

Xia et al. (2016) mostraram que embora adipócitos perivasculares de ratos obesos possuam expressão de óxido nítrico sintase endotelial adequada, a produção de óxido nítrico é limitada. Na opinião dos autores, a dieta rica em gordura pode ser responsável pelo desacoplamento de tal enzima, o que induz à produção de ânion superóxido.

Outra enzima importante na geração de espécies reativas é a xantina oxidase, com sua atividade aumentada em indivíduos obesos, principalmente em situação de reperfusão tecidual de oxigênio pós-hipóxia, promovendo a formação excessiva de espécies reativas, como o ânion superóxido e o peróxido de hidrogênio (VALKO et al., 2006). Estudo conduzido por Tam et al. (2014) mostrou associação positiva entre a atividade desta enzima e marcadores do estresse oxidativo em indivíduos obesos, a exemplo da lipoproteína de baixa densidade (LDL)-oxidada.

Quanto a enzima NADPH oxidase, esta constitui uma proteína transmembrana que transfere elétrons nas membranas celulares utilizando oxigênio molecular e NADPH citosólico como doador de elétrons, o que gera superóxido extracelular como subproduto (AUGSBURGER et al., 2019; MANNA; JAIN, 2015). A NADPH oxidase 4, em particular, constitui a isoforma predominante nos adipócitos, sendo sua expressão aumentada pelo excesso de ácidos graxos livres e glicose plasmática, característica comum da obesidade (HAN et al., 2012).

Outra implicação da disfunção do tecido adiposo no estresse oxidativo, é a hiperglicemia crônica presente em indivíduos com obesidade (ARAÚJO et al., 2014).

Sobre este aspecto, a sobrecarga de glicose intracelular ativa a via glicolítica e o ciclo do ácido tricarboxílico, conduzindo à superprodução de dinucleótido de nicotinamida e adenina (NADH) e dinucleótido de flavina e adenina 2, o que resulta em aumento no gradiente de prótons na membrana interna mitocondrial, e conseqüentemente, na produção de ânion superóxido (MANNA; JAIN, 2015).

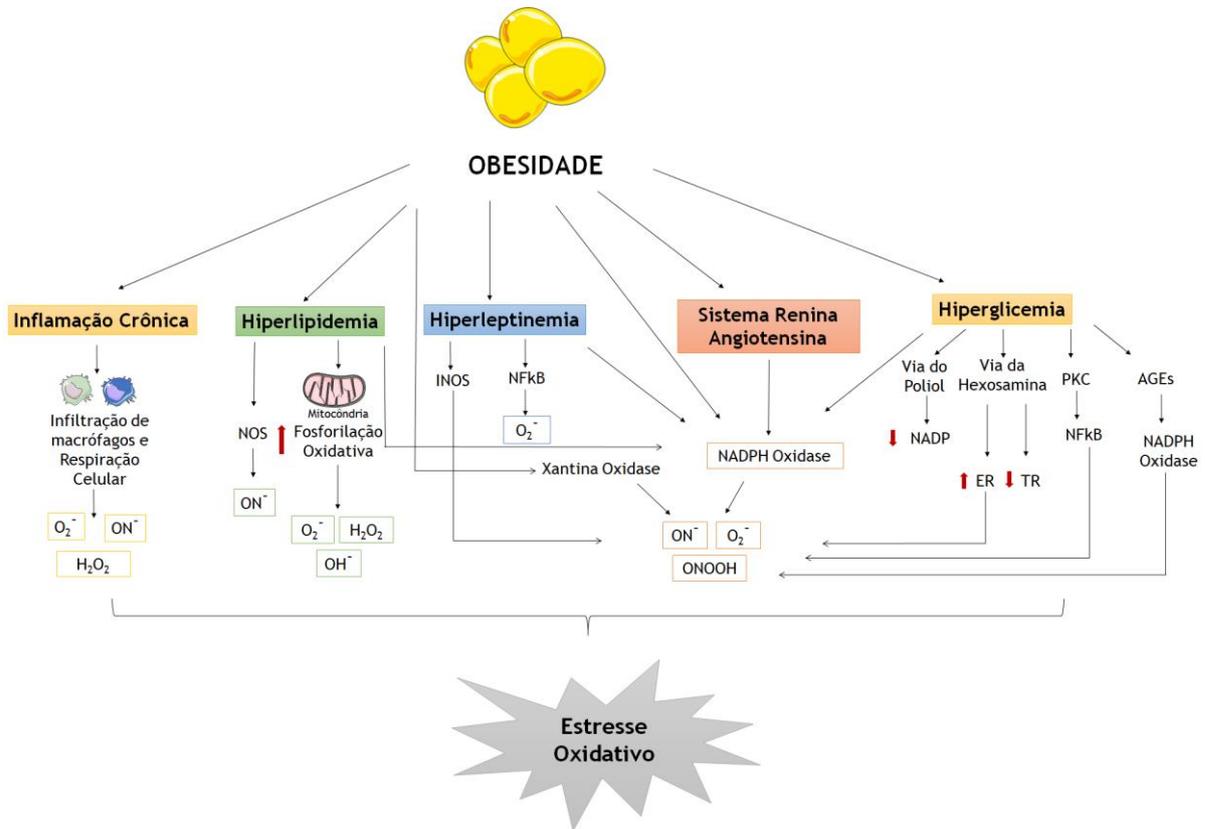
O excesso de espécies reativas oriundos da sobrecarga de glicose inibe a atividade da enzima gliceraldeído-3 fosfato desidrogenase, redirecionando seus metabólitos para outras quatro vias, sendo a glicose deslocada para via do polioliol; a glicose-6 fosfato, para a via da hexosamina; a triose-fosfato produz metilglioxal, que constitui principal precursor de produtos finais de glicação avançada; e a fosfato de di-hidroxiacetona é convertida em diacilglicol, que ativa a via da proteína quinase C. Tais vias aumentam a produção de espécies reativas (MANNA; JAIN, 2015).

Nesse contexto, a via do polioliol promove depleção de NADPH e aumenta a conversão de glicose a sorbitol, estimulando a expressão de vários genes codificantes para proteínas que participam da geração de espécies reativas de oxigênio. Além disso, a produção de glucosamina-6-fosfato pela via da hexosamina inibe a atividade da selenoproteína tiorredoxina, induzindo estresse oxidativo. Os produtos de glicação avançada e a proteína quinase C favorecem a produção de espécies reativas devido à ativação da NADPH oxidase e da via do NF-κB (MANNA; JAIN, 2015).

Destaca-se o aumento na secreção de leptina pelo tecido adiposo, que constitui outro fator indutor da produção de radicais livres na obesidade, por estimular a atividade da NADPH oxidase em processo dependente da proteína quinase C, e ainda por ativar a via NF-κB. Além disso, a hiperleptinemia aumenta a atividade da óxido nítrico sintase induzível, gerando óxido nítrico, que reage com o ânion superóxido, produzindo peroxinitrito e outros radicais livres, como a hidroxila, contribuindo, para o desenvolvimento do estresse oxidativo (AL-HAMODI et al., 2014; CHATTERJEE et al., 2013; PANDEY et al., 2015).

Ressalta-se ainda que, em indivíduos obesos, o sistema renina-angiotensina é superexpresso e/ou superativado tanto no tecido adiposo quanto de forma sistêmica. Esse fato é evidenciado pela maior secreção de angiotensina II, que, ao se ligar aos seus receptores do tipo 1, contribui para maior atividade da enzima NADPH oxidase em diferentes tecidos, e conseqüentemente maior produção de espécies reativas (RAMALINGAM et al., 2017). A figura 02 mostra as implicações da disfunção do tecido adiposo com ênfase no estresse oxidativo.

Figura 02 – Implicações da disfunção do tecido adiposo com ênfase no estresse oxidativo.



Legenda: AGEs: produtos finais de glicação avançada; ER: espécies reativas; H_2O_2 : peróxido de hidrogênio; INOS: óxido nítrico sintase induzível; NADPH: nicotinamida adenina dinucleótido fosfato; O_2^- : ânion superóxido; ON^- : óxido nítrico; ONOOH: peroxinitrito; NFkB: fator nuclear Kappa B; NOS: óxido nítrico sintase; PKC: proteína quinase C; TR: tioredoxina.

Fonte: Adaptado de Manna; Jain (2015).

Como consequência do estresse oxidativo, destacam-se alterações funcionais em diversas células e tecidos, incluindo, células endoteliais vasculares, miócitos e células beta-pancreáticas, bem como na sinalização redox celular (LAY et al., 2014; MANNA; JAIN, 2015). Nesse sentido, ocorre comprometimento da secreção de insulina pelas células beta-pancreáticas e do transporte de glicose nos músculos e tecido adiposo, e nos vasos sanguíneos, as espécies reativas de oxigênio e nitrogênio favorecem disfunção endotelial (MARSEGLIA et al., 2015).

Além disso, a interrupção do equilíbrio redox interfere em várias vias de sinalização como aquelas associadas à proliferação celular, apoptose, invasividade, resistência a medicamentos e metabolismo energético, favorecendo o crescimento de tumores e sua progressão (RANI et al., 2015). Dessa forma, o estresse oxidativo está

envolvido na patogênese de diversas doenças, como a aterosclerose, câncer e diabetes *mellitus*, entre outras (DAS et al., 2016; MARSEGLIA et al., 2015).

2.2 Sistema de Defesa Antioxidante

Na perspectiva de neutralizar as espécies reativas de oxigênio, o organismo necessita da ação de substratos com potencial antioxidante. Estes são definidos como quaisquer substâncias que, quando presentes em pequenas concentrações, comparadas com as espécies reativas, significativamente retardam ou inibem a oxidação destas moléculas, podendo agir em diferentes níveis da sequência oxidativa (BARBOSA et al., 2010).

Nesse sentido, o organismo dispõe de um sistema de defesa antioxidante que visa manter o balanço entre a produção e a remoção de espécies reativas, com o intuito de obter proteção contra o estresse oxidativo. O sistema antioxidante é constituído por compostos não enzimáticos, a exemplo da vitamina E e da glutathione, e por diversas enzimas que atuam neutralizando as espécies reativas produzidas, como a superóxido dismutase, catalase e glutathione peroxidase (MATOUŠKOVÁ; HANOUSKOVÁ; SKÁLOVÁ, 2018).

A expressão de genes codificantes para enzimas do sistema de defesa antioxidante é regulada por fatores de transcrição, a exemplo do fator nuclear eritróide 2 relacionado ao fator 2 (Nrf2)/ Keap1 (*Kelch-like ECH-associated Protein*), que em situações fisiológicas, permanece no citoplasma da célula associado a duas moléculas de Keap 1, formando um complexo com Cul3-Rbx1 (*E3-ubiquitin ligase complex/Ring box protein 1*) (SIES, 2018). No entanto, quando as células sofrem estímulos estressores, as cisteínas reativas em Keap 1 são oxidadas e o fator de transcrição Nrf2 fica livre e se transloca para o núcleo, onde se associa às proteínas sMaf (*small músculo aponeuroticfibrosarcoma*), ligando-se ao elemento de resposta antioxidante ou ao elemento de resposta eletrofilica, induzindo a transcrição de genes que codificam enzimas da defesa antioxidante (HAHN; OLIVEIRA; BOCK, 2017; SIES, 2018).

A ativação do Nrf2 também ocorre por meio da ação de proteínas quinases, destacando-se a proteína quinase C, substrato regulado por sinal extracelular, c-Jun N-terminal quinase e fosfatidilinositol-3-quinase, que atuam fosforilando diretamente o Nrf2 em resíduos de serina ou treonina, facilitando sua dissociação do complexo

com Keap1 e posterior translocação nuclear (Figura 03) (HAHN; OLIVEIRA; BOCK, 2017; SIES, 2018).

Entre as enzimas antioxidantes transcritas pelo Nrf2, destacam-se a superóxido dismutase, catalase e a glutaciona peroxidase. Tais enzimas constituem a primeira linha de defesa antioxidante do organismo e atuam por meio de mecanismos de prevenção, impedindo e/ou controlando a formação de radicais livres e de espécies não-radicaais envolvidas com a iniciação das reações em cadeia, que culminam com a propagação e amplificação do processo e, conseqüentemente, com a ocorrência de danos oxidativos (BARBOSA et al., 2010; IGHODARO; AKINLOYE, 2018).

A enzima superóxido dismutase atua catalisando a dismutação de dois ânions superóxido a peróxido de hidrogênio. A família desta enzima antioxidante é constituída por três isoformas, sendo a superóxido dismutase 2, dependente de manganês e localizada na mitocôndria, e as superóxido dismutase 1 e 3, dependentes de cobre e zinco, são situadas no espaço intracelular e extracelular, respectivamente (IGHODARO; AKINLOYE, 2018).

A catalase é uma enzima peroxissomal, constituída por quatro monômeros idênticos, contendo em seu centro ativo um grupamento heme. Esta enzima atua na degradação do peróxido de hidrogênio em oxigênio molecular e água, utilizando ferro ou manganês como cofator e, conseqüentemente, completando o processo de desintoxicação iniciado pela superóxido dismutase (BIRBEN et al., 2012; IGHODARO; AKINLOYE, 2018; RUPÉREZ et al., 2013).

Outra enzima com ação antioxidante importante é a glutaciona peroxidase, que se apresenta em oito isoformas diferentes (1 a 8). As isoformas 1, 2, 3, 4 e 6 são selenoproteínas que contêm em seu centro catalítico selenocisteína e possuem função antioxidante em diferentes compartimentos celulares, e a glutaciona peroxidase 5, 7 e 8 possuem cisteína em seu centro catalítico (MATOUŠKOVÁ; HANOUSKOVÁ; SKÁLOVÁ, 2018).

A glutaciona peroxidase catalisa a redução do peróxido de hidrogênio, hidroperóxidos orgânicos ou hidroperóxidos fosfolipídicos (isoforma 4), formando água e alcoóis correspondentes, utilizando, principalmente, duas moléculas de glutaciona como agente redutor. Essa enzima pode atuar na modulação de vias fisiológicas, pois influencia as concentrações de hidroperóxidos, moléculas sensíveis a grupos tiol e selenol altamente reativos, que atuam como sinalizadores redox (KIEŁCZYKOWSKA et al., 2018; MATOUŠKOVÁ; HANOUSKOVÁ; SKÁLOVÁ, 2018).

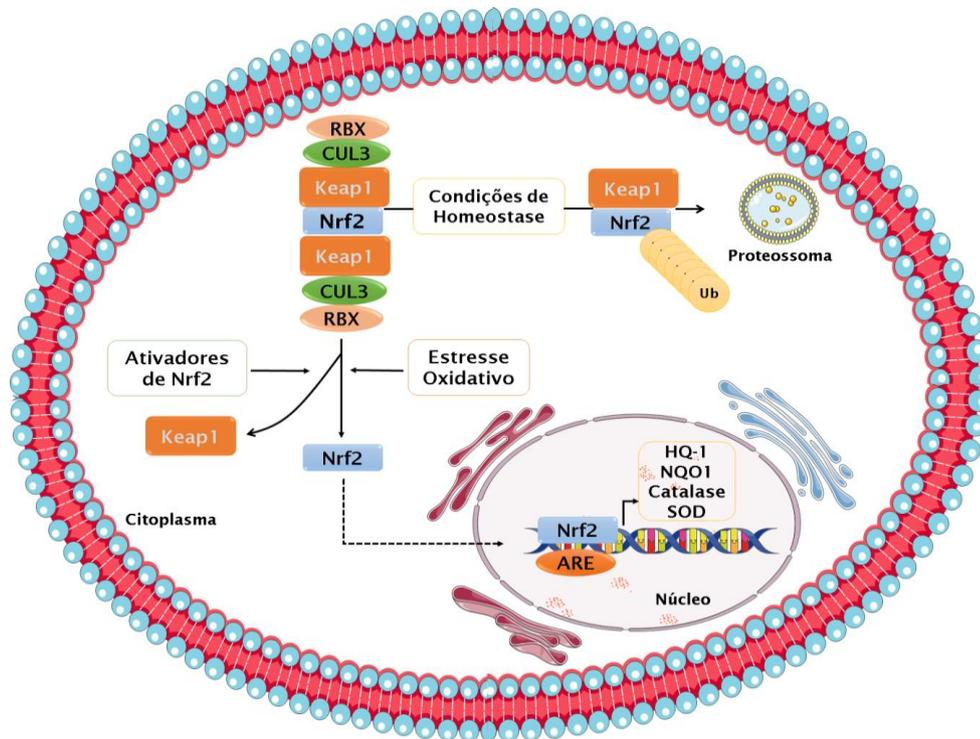
A glutathione peroxidase 1 foi a primeira selenoproteína identificada. Esta enzima tem elevada expressão no citosol e na mitocôndria de eritrócitos e em outras células, como aquelas do endotélio vascular. Em seu centro catalítico, contém selenocisteína, lisina e quatro argininas, que conferem a esta proteína maior afinidade a glutathione entre todas as suas isoformas. A glutathione peroxidase 1 reage, principalmente, com peróxido de hidrogênio, hidroperóxidoslisofosfatídicos e hidroperóxidos solúveis de baixo peso molecular, a exemplo do hidróxido de cumeno, hidróxido butil-t e hidróxidos de ácidos graxos (MATOUŠKOVÁ; HANOUSKOVÁ; SKÁLOVÁ, 2018).

Com relação aos antioxidantes endógenos não enzimáticos, destaca-se a ação da glutathione (γ -glutamylcysteinylglycine), tripeptídeo composto de aminoácidos não essenciais (ácido glutâmico, cisteína e glicina) (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 1985), que atua de forma direta neutralizando espécies reativas ou, indiretamente, por meio de enzimas antioxidantes dependentes desta molécula, como a glutathione peroxidase e a glutathione S transferase (ZHANG; CHOI, 2005).

De forma direta, a glutathione interage com as espécies reativas em reações não enzimáticas “sequestrando” os compostos hidroxila e oxigênio “singlete”, cuja formação é oriunda da transferência de energia que promove a inversão do *spin* de um dos elétrons da molécula de oxigênio a partir do oxigênio triplete (RONSEIN et al., 2006). Indiretamente, esse tripeptídeo atua como cossubstrato de enzimas, a exemplo da glutathione peroxidase, catalisando a redução do peróxido de hidrogênio a água, por meio da conversão da glutathione a dissulfeto de glutathione (GSSG) (ROVER; HOEHR; VELLASCO, 2001).

Para manutenção do ciclo da glutathione, o GSSG precisa ser regenerado a sua forma reduzida (glutathione), sendo a glutathione reductase, responsável pela recuperação desse substrato utilizando NADPH. Quando ocorre inativação de um agente oxidante, a glutathione é utilizada, com consequente produção de GSSG. Em situações de homeostase, o sistema de oxirredução promove recuperação da glutathione. No entanto, quando há excesso de agentes oxidantes e/ou deficiência do sistema antioxidante, ocorre desequilíbrio entre o consumo de glutathione e a produção de GSSG (ROVER; HOEHR; VELLASCO, 2001). Assim, a glutathione se destaca como importante integrante do sistema de defesa antioxidante.

Figura 03 – Via de sinalização do fator de transcrição nuclear eritroide relacionado ao fator 2.



Legenda: Nrf2: fator nuclear eritroide relacionado ao fator 2; Keap1: *Kelch-like ECH-associated Protein*; CUL3: *E3-ubiquitin ligase complex*; RBX: *Ring box protein 1*; ARE: elemento de resposta antioxidante; SOD: superóxido dismutase.

Fonte: Adaptado de Hahn; Oliveira; Bock (2017).

2.3 Deficiência em Magnésio, Selênio e Zinco na Obesidade: Repercussões sobre o Estresse Oxidativo

2.3.1 Deficiência em Magnésio na Obesidade

Diversos estudos têm demonstrado deficiência em magnésio em indivíduos com obesidade, caracterizada por redução nas suas concentrações plasmáticas, eritrocitárias, leucocitárias e urinárias. Alguns fatores têm sido elencados como contribuintes para tal deficiência, a exemplo da ingestão dietética reduzida e distúrbios hormonais (CRUZ et al., 2014; HASSAN et al., 2017; LECUBE et al., 2012; SEVERO et al., 2015; SONG et al., 2007; VOLPE, 2013).

Sobre a ingestão inadequada de magnésio pelos indivíduos obesos, os dados oriundos de estudos sobre consumo alimentar revelam que esse grupo populacional possui pouca preferência por alimentos fontes desse nutriente, a exemplo dos

vegetais verde-escuros, cereais integrais, nozes e sementes, o que constitui um dos principais fatores contribuintes para a hipomagnesemia (CHAUDHARY; SHARMA; BANSAL, 2010; MORAIS et al., 2017; OLIVEIRA et al., 2015).

A resistência à insulina presente na obesidade, considerada alteração hormonal importante, constitui fator contribuinte para a redução nas concentrações de magnésio, visto que esse quadro limita a reabsorção renal de magnésio. Sobre este aspecto, destaca-se que a insulina em situação fisiológica induz a translocação do receptor de potencial transitório do tipo melastatina (TRPM) tipo 6, canal responsável pelo transporte de magnésio, promovendo a reabsorção renal desse mineral (GOMMERS et al., 2016; NAIR et al., 2012).

A hiperleptinemia comum em organismos obesos também induz a deficiência em magnésio por aumentar a excreção urinária desse nutriente, via mecanismos de natriurese e diurese (ATABEK; KURTOGLU; PIRGON, 2006; BAAIJ, 2015). Além disso, o aumento das concentrações de leptina promove lesão renal e contribui para redução da atividade metabólica dos túbulos proximais, local onde ocorre reabsorção de 10 a 30% do magnésio filtrado (MA; ZHAO; ZHU, 2016; ROMANI, 2011; TSAI, 2017).

Com relação às repercussões bioquímicas, metabólicas e moleculares decorrentes da deficiência em magnésio na população obesa, destaca-se o estresse oxidativo. Pesquisas realizadas em crianças e mulheres obesas verificaram concentrações reduzidas desse mineral na dieta e no soro, bem como níveis elevados de malondialdeído sérico (CELIK; ANDIRAN; YILMAZ, 2011; CODOÑER et al., 2010; NIRANJAN et al., 2014; OLIVEIRA et al., 2019; PATEL et al., 2014). Dados de estudo conduzido por nosso grupo de pesquisa mostram correlação negativa entre a concentração eritrocitária de magnésio e as concentrações de substâncias reativas ao tiobarbitúrico (TBARS) plasmáticas em mulheres com obesidade (MORAIS et al., 2017).

2.3.1.1 Impacto da Hipomagnesemia no Estresse Oxidativo

Diversos mecanismos têm sido apontados para explicar como a deficiência em magnésio pode favorecer o estresse oxidativo, em particular na população obesa. Dentre estes, destacam-se a redução na expressão e atividade de enzimas antioxidantes, produção excessiva de espécies reativas de oxigênio, ativação de vias

inflamatórias, aumento na concentração de cálcio intracelular, lipoperoxidação induzida pelo ferro, resistência à insulina, alteração na síntese da glutathione, dislipidemias e disfunção endotelial (BARBAGALLO; DOMÍNGUEZ, 2010; BELIN; HE, 2007).

A hipomagnesemia parece contribuir para a redução na expressão e atividade de enzimas antioxidantes, como a glutathione peroxidase, superóxido dismutase e catalase e para o incremento na produção de espécies reativas de oxigênio, a exemplo do peróxido de hidrogênio e do ânion superóxido (BARBAGALLO; DOMÍNGUEZ, 2010; BELIN; HE, 2007). Nesse sentido, Calviello et al. (1994) verificaram concentrações reduzidas da molécula glutathione e da enzima superóxido dismutase hepática, bem como valores elevados de malondialdeído em ratos deficientes em magnésio, o que reforça a importância desse nutriente na indução do estresse oxidativo.

O magnésio atua como cofator das enzimas γ -glutamylcisteína sintetase e glutathione sintetase, envolvidas na biossíntese da glutathione endógena, substrato importante na proteção da membrana celular contra o dano oxidativo e em processos coenzimáticos (HUBER et al., 2008; MORAIS et al. 2017; TOHIDI et al., 2011). Esse mineral também é necessário para a atividade da enzima gama-glutamyl-transpeptidase, a qual disponibiliza cisteína para ressíntese da glutathione endógena. Portanto, a deficiência em magnésio, por limitar a síntese do substrato glutathione no meio intracelular, constitui um fator contribuinte relevante para a formação de espécies reativas de oxigênio (GATÉ et al., 2011; ZHANG; FORMAN; CHOI, 2005).

Ressalta-se que em situações de estresse oxidativo, a enzima gama-glutamyl-transpeptidase é importante para manutenção do equilíbrio redox entre a glutathione reduzida e a oxidada. No entanto, tem sido sugerido que a hipomagnesemia interfere na manutenção desse equilíbrio, pois não há substrato suficiente para a regeneração da glutathione e, conseqüentemente, a glutathione peroxidase tem sua atividade reduzida, favorecendo o estresse oxidativo (STARK et al., 2003).

Além disso, a depleção em magnésio aumenta a produção de espécies reativas de oxigênio e nitrogênio, como ânion superóxido, óxido nítrico e peroxinitrito, por induzir a atividade das enzimas pró-oxidantes xantina oxidase, NADPH oxidase e o desacoplamento da óxido nítrico sintase (AFANAS'EV et al., 1995; BAAIJ; HOENDEROP; BINDELS, 2015; BELIN; HE, 2007; CHEN; MAK, 2014; DEEPTI; NALINI, 2014; ROCHA et al., 2015).

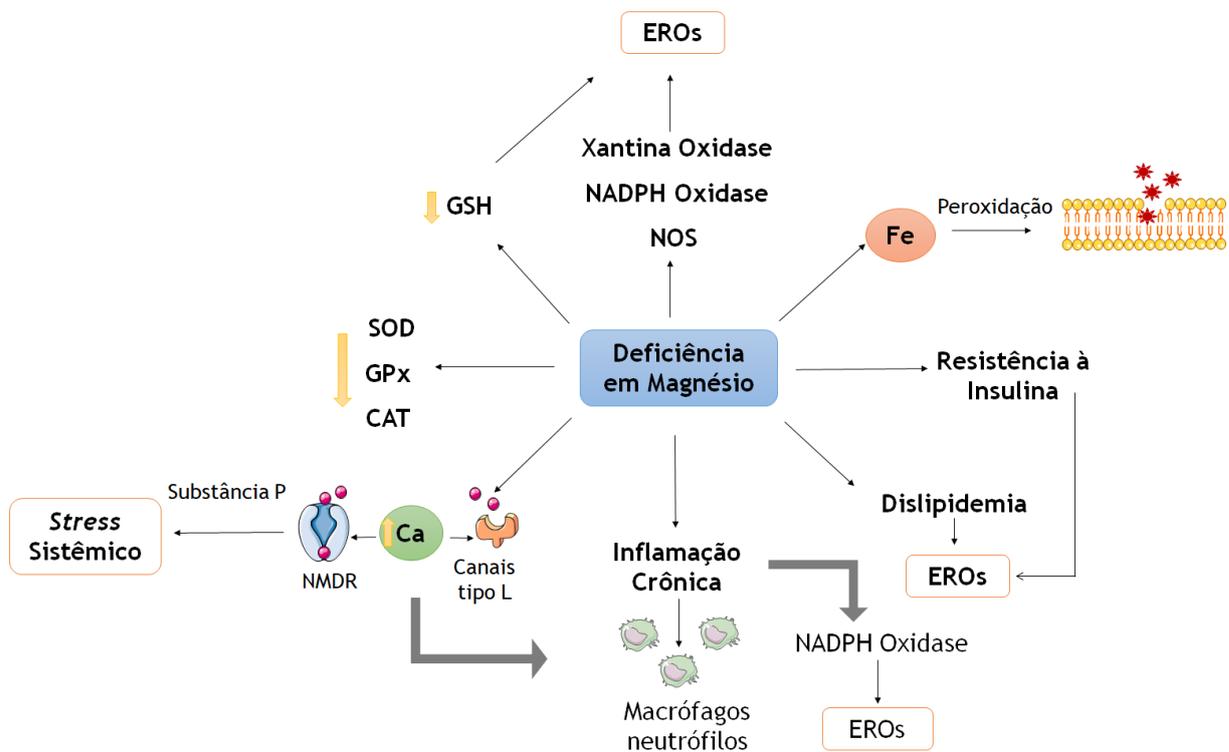
Outro aspecto é que a hipomagnesemia parece elevar as concentrações de cálcio iônico intracelular, por meio da ativação dos receptores N-metil-D-aspartato (NMDR) nas células neurais e dos canais de cálcio tipo L no tecido adiposo, o que favorece a infiltração de neutrófilos e macrófagos nos adipócitos e a ativação de vias inflamatórias, e por sua vez, eleva a atividade das enzimas NADPH oxidase e óxido nítrico sintase (MAIER, 2012; MAZUR et al., 2007; NIELSEN, 2018; OTEIZA, 2012; RAYSSIGUIER et al., 2010).

Outra consequência da depleção em magnésio parece ser a indução na peroxidação lipídica catalisada pelo ferro (KOSTELLOW; MORRILL, 2004; SAMPAIO et al., 2014). No estudo de Kostellow e Morrill (2004), observou-se que concentrações elevadas de ferro contribuíram para a lipoperoxidação em ratos com deficiência em magnésio. Os dados desse estudo reforçam a possível contribuição do magnésio no meio extracelular para a redução de produtos da peroxidação lipídica.

A deficiência em magnésio induz o estresse oxidativo, indiretamente, por favorecer o descontrole glicêmico e resistência à insulina (BERTINATO et al., 2015; GUERRERO-ROMERO et al., 2016). Ressalta-se que o magnésio intracelular é cofator de enzimas envolvidas no metabolismo dos carboidratos, pela sua atuação como parte do complexo Mg^{2+} -ATPase, substrato importante para o metabolismo da glicose (BARBAGALLO; DOMINGUEZ, 2007; CHAUDHARY; SHARMA; BANSAL, 2010). A hipomagnesemia compromete ainda a autofosforilação da subunidade β do receptor de insulina e a fosforilação dos seus substratos o que revela a importância desse nutriente para o controle glicêmico (MOOREN et al., 2011).

A deficiência em magnésio ainda presdipõe o desenvolvimento de um perfil lipídico favorável ao estresse oxidativo, pois aumenta a produção de epinefrina e cortisol, hormônios indutores da lipólise. Tal fato favorece aumento das concentrações de ácidos graxos livres e da lipogênese no fígado, e conseqüentemente, eleva as concentrações séricas de colesterol total, LDL-colesterol e de triacilgliceróis, bem como reduz a lipoproteína de alta densidade (HDL)-colesterol, cenário favorável a geração de espécies reativas de oxigênio (BUSSEROLLES et al., 2003; BUSSIÈRE et al., 1995; GUERRERO-ROMERO et al., 2016; GUERRERO-ROMERO; RODRIGUEZ-MORÁN, 2013; ZHELTOVA et al., 2016). A figura 04 mostra o impacto da deficiência em magnésio na indução do estresse oxidativo presente na obesidade.

Figura 04 – Impacto da deficiência em magnésio na indução do estresse oxidativo na obesidade.



Legenda: EROs: espécies reativas de oxigênio; NADPH oxidase: nicotinamida adenina dinucleótido fosfato; SOD: superóxido dismutase, GPx: glutatona peroxidase; CAT: catalase; Ca: cálcio, Fe: ferro, NMDR: N-metil-D-aspartato.

Fonte: Adaptado de Morais et al. (2017).

2.3.2 Deficiência em Selênio na Obesidade

Estudos têm identificado alterações no metabolismo de selênio em indivíduos com obesidade, sendo estas caracterizadas pelas concentrações desse mineral reduzidas em compartimentos sanguíneos e aumento de sua excreção urinária. Além disso, algumas pesquisas também mostram comprometimento na expressão e atividade de selenoproteínas, enzimas antioxidantes que contêm selênio na forma de selenocisteína (ALASFAR et al., 2011; ARNAUD et al., 2006; AZAB et al., 2014; BŁAŻEWICZ et al., 2015; COMINETTI et al., 2012; KIMMONS et al., 2006).

Alasfar et al. (2011) avaliaram as concentrações séricas de elementos traços em mulheres com obesidade grau III e verificaram valores reduzidos de selênio nessas pacientes, quando comparadas com o grupo controle. De forma semelhante, estudo conduzido por Cominetti et al. (2012) identificou hiposelenemia neste grupo

populacional, com 37% das participantes apresentando redução na atividade da glutathione peroxidase eritrocitária. Em estudo mais recente, foi verificada prevalência de inadequação de selênio plasmático de 36,7 % em crianças com obesidade grau III (STENZEL et al., 2018).

Pesquisas foram conduzidas na perspectiva de avaliar a associação entre concentrações de selênio e marcadores de adiposidade. No estudo de Zhong; Lin; Nong (2018) foi identificada associação negativa entre os valores séricos de selênio e o IMC em adultos, bem como entre a concentração do mineral no soro e o percentual de gordura corporal nas mulheres participantes do estudo. Nesse sentido, de forma semelhante, Hosseini et al. (2017), em revisão sistemática, encontraram concentrações séricas de selênio inversamente associadas com o índice de massa corpórea e massa total de gordura. Dessa forma, os estudos têm demonstrado a influência da adiposidade corporal sobre o estado nutricional relativo ao selênio.

Sobre os fatores que podem contribuir para a deficiência em selênio na obesidade, a ingestão inadequada do mineral, caracterizada pelo teor dietético reduzido de seus alimentos fontes, a exemplo de grãos integrais, vegetais, frutos do mar, carne, laticínios e nozes (AVERY; HOFFMANN, 2018; BRASIL, 2011; FERREIRA et al., 2002) e a presença de desordens metabólicas, por aumentar a demanda por selênio ou alterar a sua homeostase, tem sido apontados como aqueles mais relevantes (COMINETTI et al., 2011).

A inflamação crônica associada à obesidade também contribui para deficiência em selênio, pois citocinas pró-inflamatórias interferem na expressão de selenoproteínas, a exemplo da selenoproteína P1, proteína transportadora de selênio no plasma, o que conseqüentemente, compromete a distribuição desse nutriente em tecidos periféricos, bem como suas funções fisiológicas (COMINETTI et al., 2011; RAYMAN, 2012).

Algumas pesquisas têm demonstrado o impacto da deficiência em selênio sobre marcadores do estresse oxidativo. Nesse sentido, Galan-Chilet et al. (2014) mostraram associação inversa entre a concentração plasmática de selênio e o malondialdeído em adultos saudáveis. Helmersson et al. (2005) verificaram correlação inversa entre as concentrações séricas de selênio e o F-2 isoprostano urinário em adultos.

Associado a isso, tem sido verificado alteração na expressão ou atividade da enzima glutathione peroxidase na obesidade. Tal fato foi demonstrado nos resultados

obtidos das pesquisas conduzidas por Ferro et al. (2011) e Amirkhizi et al. (2014) que identificaram redução na atividade dessa enzima no plasma em indivíduos obesos, quando comparados ao grupo controle.

2.3.2.1 Impacto da Hiposelenemia no Estresse Oxidativo

A deficiência em selênio constitui fator importante para aumentar o estresse oxidativo, pois esse mineral é componente catalítico de selenoproteínas essenciais para o controle do estado redox no organismo, a exemplo da glutathione peroxidase, tioredoxina redutase, metionina sulfóxido redutase B, bem como da selenoproteína P. Alterações nesse nutriente favorecem ainda a inflamação crônica, hiperglicemia, hiperinsulinemia e dislipidemias, desordens que parecem contribuir para a produção excessiva de espécies reativas, de forma indireta (BRENNEISEN; STEINBRENNER; SIES, 2005; KIEŁCZYKOWSKA et al., 2018; LABUNSKYY; HATFIELD; GLADYSHEV, 2014; WEEKS; HANNA, COOPERSTEIN, 2012).

Ressalta-se que a deficiência em selênio no organismo, compromete a expressão e atividade de selenoproteínas. Nesse sentido, existe uma hierarquia dessas selenoenzimas, sendo expressas de acordo com a importância de suas funções no organismo. Entre as glutathione peroxidases, a expressão das isoformas 1 e 3 é mais comprometida em relação a 2 e 4, a selenoproteína P ocupa posição intermediária e a tioredoxina 1 e 3 parecem ser menos reguladas pelo selênio dietético (AVERY; HOFFMANN, 2018; HESKETH, 2008; LABUNSKYY; HATFIELD; GLADYSHEV, 2014; SCHOMBURG; SCHWEIZER, 2009). Dessa forma, o comprometimento da expressão de selenoproteínas ocorre de maneira diferenciada, sendo depletadas, inicialmente, as principais selenoproteínas antioxidantes.

As concentrações reduzidas de selênio, além de prejudicar a síntese de selenoproteínas, aumenta a susceptibilidade dos RNAs destas enzimas a mutações, sendo que o códon UGA pode funcionar como um códon de parada prematuro. As diferenças na estabilidade dos RNAs específicos de cada selenoproteína parecem influenciar no direcionamento do selênio para cada uma delas. Assim, as selenoproteínas são diferencialmente reguladas pela disponibilidade do mineral, sendo que a glutathione peroxidase 1 tem sua expressão reduzida em condições de deficiência (COMINETTI et al., 2011; LABUNSKYY; HATFIELD; GLADYSHEV, 2014;

OTTAVIANO; HANDY; LOSCALZO, 2008; THOMSON, 2004; TOUAT-HAMICI et al., 2014; ZHANG et al., 2013).

A deficiência em selênio pode ainda comprometer a função de outras selenoproteínas envolvidas no controle redox. Nesse sentido, a atividade da tioredoxina redutase reduzida pode prejudicar a neutralização de tioredoxinas oxidadas 1 e 2, peróxido de hidrogênio e hidroperóxidos orgânicos e dissulfidos proteicos (BELLINGER et al., 2009; STEINBRENNER; SPECKMANN, KLOTZ, 2016). No entanto, o substrato metionina sulfóxido redutase B ou selenoproteína R, por sua vez, protege contra espécies reativas de oxigênio por meio do controle do estado redox da tioredoxina. Sobre este aspecto, destaca-se que depleção em selênio pode prejudicar a regeneração de tioredoxina, contribuindo indiretamente para aumentar hidroperóxidos e peroxinitrito (AVERY; HOFFMANN, 2018; STEINBRENNER; SPECKMANN, KLOTZ, 2016).

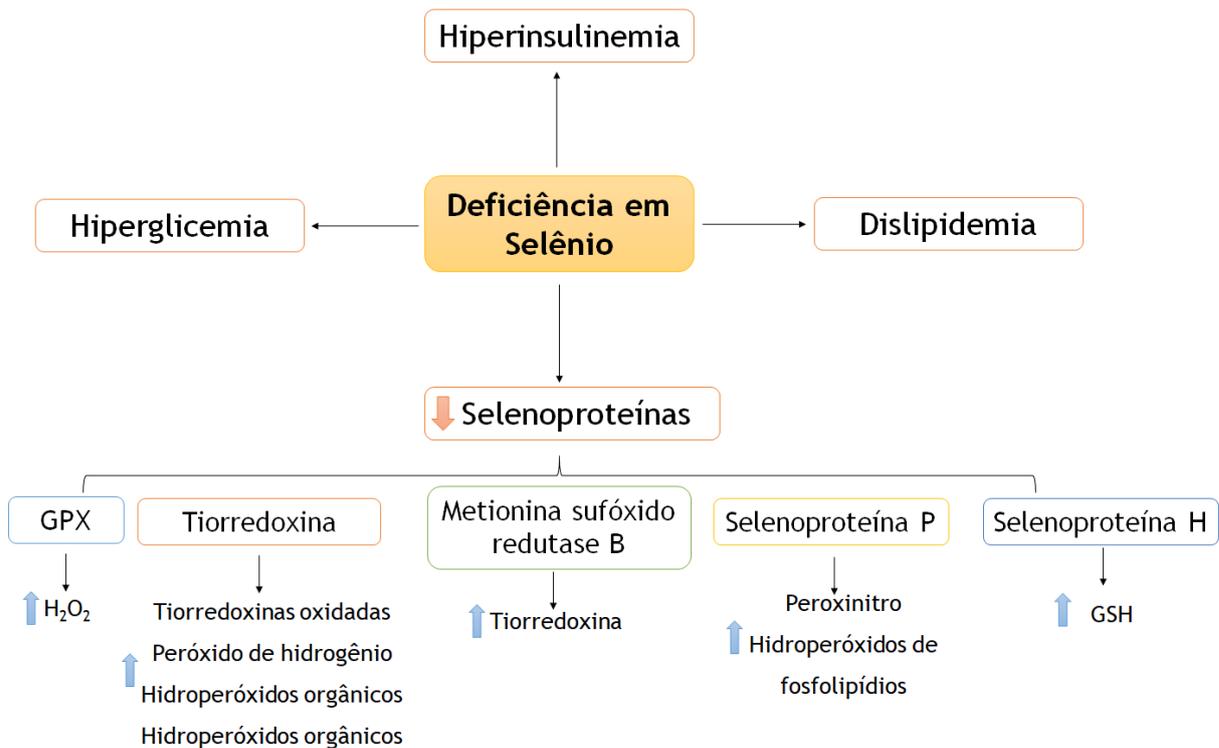
A deficiência em selênio pode reduzir a concentração de selenoproteína H, o que interfere na expressão da γ -glutamilcisteíno sintetase, enzima envolvida na síntese de glutathione (BELLINGER et al., 2009). Além disso, concentrações reduzidas desse mineral comprometem as funções antioxidantes da selenoproteína P de neutralizar o radical peroxinitrito e hidroperóxidos de fosfolípidios e de reduzir a toxicidade induzida por metais pesados, a exemplo do mercúrio e cádmio (ALMONDES et al., 2010; BELLINGER et al., 2009; KIEŁCZYKOWSKA et al., 2018; STEINBRENNER; SPECKMANN, KLOTZ, 2016).

Destaca-se ainda que indiretamente, a deficiência em selênio predispõe a produção excessiva de espécies reativas devido sua atuação como nutriente anti-inflamatório. Esse mineral regula as vias dos fatores de transcrição nucleares envolvidos na síntese de moléculas inflamatórias, por meio de selenoproteínas que inibem a translocação do NF κ B para o núcleo e a atividade e expressão da quinase reguladora de sinais apoptóticos 1, proteína intermediária da via da proteína quinase ativada por mitógeno. O selênio ainda modula a síntese de eicosanoides pelas enzimas cicloxigenase e lipoxigenase (MATTMILLER; CARLSON; SORDILLO, 2013).

A hiposelenemia contribui também para o estresse oxidativo, por comprometer a captação de glicose em tecidos periféricos, o que favorece a manifestação de um quadro de hiperglicemia, e conseqüentemente, ativação de enzimas pró-oxidantes, fator contribuinte para a produção excessiva de espécies

retativas de oxigênio (BARAKAT; MOUSTAFA; BIKHASIL, 2012). A figura 05 mostra o impacto da deficiência em selênio na manifestação do estresse oxidativo em obesos.

Figura 05 – Impacto da deficiência em selênio na indução do estresse oxidativo na obesidade.



Legenda: GPx: glutaciona peroxidase; GSH: γ -glutamilcisteinilglicina; H_2O_2 : peróxido de hidrogênio.

Fonte: Elaborado pela autora.

2.3.3 Deficiência em Zinco na Obesidade

A literatura tem evidenciado alterações na homeostase do zinco em indivíduos com obesidade, sendo verificada redução em suas concentrações plasmáticas ou eritrocitárias e aumento em tecidos específicos, como adiposo, hepático e muscular, sendo que tais alterações parecem ser oriundas da redistribuição desse mineral no organismo (AZAB et al., 2014; BEGIN-HEICK et al., 1985; FERRO et al., 2011; FOSTER; SAMMAN, 2012; MARREIRO et al., 2002; MARTINS et al., 2014).

Na perspectiva de identificar as causas que levam a compartimentalização do zinco na obesidade, destacam-se a inflamação crônica de baixo grau e o aumento de glicocorticóides sérico por ativarem o fator de transcrição regulamentar de metal 1 (MTF-1), favorecem a expressão de genes codificantes para a metalotioneína e

proteínas transportadoras de zinco, as quais transportam este mineral do plasma para os tecidos, em especial o hepático e adiposo, contribuindo para a hipozincemia (FEITOSA et al., 2012; LIUZZI et al., 2005; MARTINS et al., 2015).

Ressalta-se o estudo realizado por Aydemir et al. (2012) em modelo animal que evidenciou aumento na expressão da *Zrt-and Irt-like protein* (Zip)-14 em situação de inflamação aguda, principalmente nos tecidos adiposo e hepático, sendo esse associado à deficiência em zinco. De forma semelhante, Noh et al. (2014) também verificaram que as proteínas transportadoras *Zinc transporter* (ZnT)-4, ZnT-5, Zip-1, Zip-6 se apresentam inversamente associadas com o TNF- α e a PCR em indivíduos com obesidade.

Um fato relevante que deve ser destacado trata da influência das citocinas pró-inflamatórias oriundas do tecido adiposo sobre a modulação da expressão de transportadores de zinco, o que potencializa as alterações na distribuição do mineral em organismos obesos (KIM; ANH, 2014). No estudo de Feitosa et al. (2013) foi identificada correlação negativa entre as concentrações séricas do TNF- α e os valores plasmáticos de zinco, ratificando a influência do processo inflamatório na homeostase desse mineral em pacientes com obesidade.

2.3.3.1 Impacto da Hipozincemia no Estresse Oxidativo

Com base em dados existentes na literatura atual, verifica-se que a deficiência em zinco constitui fator importante para o estresse oxidativo sistêmico. A hipozincemia leva ao comprometimento das funções do zinco como nutriente antioxidante, sendo observada redução na expressão e atividade da enzima superóxido dismutase, prejuízo no metabolismo da glutatona, aumento na peroxidação lipídica induzida pelo ferro e o cobre, ativação da enzima NADPH oxidase e expressão reduzida da metalotioneína. Indiretamente, alterações metabólicas importantes decorrentes da deficiência em zinco, a exemplo do descontrole glicêmico, da ativação de vias pró-inflamatórias e alterações no metabolismo lipídico, também podem potencializar a produção de espécies reativas de oxigênio (FOSTER; SAMMAN, 2010; RUZ et al., 2013; ZHU et al., 2013).

O zinco é componente estrutural da enzima superóxido dismutase presente no citoplasma das células, que atua como primeira enzima no sistema de defesa antioxidante. Sobre este aspecto, tem sido verificado que a hipozincemia prejudica a

atividade da isoforma desta enzima, dependente de cobre e zinco (MARREIRO et al., 2017). Outro mecanismo de ação antioxidante comprometido pela deficiência em zinco na obesidade, diz respeito à redução na expressão da glutamato-cisteína ligase, enzima envolvida na síntese do substrato intracelular glutationa, cuja função é de neutralizar espécies reativas de oxigênio (EIDE, 2011).

O zinco também estimula a expressão da metalotioneína, proteína com importante atividade antioxidante. Essa proteína tem a capacidade de ligar-se a íons de metais pesados, como cobre, cromo, cádmio e mercúrio, desempenhando papel significativo na proteção das células contra quantidades excessivas de íons metálicos (ANDREWS, 2000; GÜNTHER; LINDERT, 2012). No entanto, a deficiência nesse mineral promove redução na expressão de metalotioneína comprometendo sua função antioxidante.

É oportuno mencionar que o zinco possui capacidade de competir com ferro e cobre em sítios de ligação na membrana celular, prevenindo a formação de radicais livres. Quando ocorre depleção do mineral, o ferro e o cobre estimulam a produção de radicais altamente reativos a partir de peróxidos lipídicos, o que induz o estresse oxidativo (OLECHNOWICZ et al., 2018; OTEIZA, 2012; PRASAD, 2014).

Destaca-se que a deficiência em zinco ainda parece estar envolvida na redução da expressão e atividade do fator de transcrição Nrf2, o que reduz a expressão de proteínas com ação antioxidante, como a glutationa peroxidase e a superóxido dismutase, bem como para as enzimas detoxificantes glutationa-S-transferase-1 e hemeoxigenase-1, contribuindo para o estresse oxidativo (LI et al., 2014; OLECHNOWICZ et al., 2018; PRASAD, 2014).

A literatura tem mostrado que a deficiência em zinco contribui para o descontrole glicêmico, o que pode indiretamente potencializar o estresse oxidativo em indivíduos obesos. Essa condição nutricional reduz a fosforilação da subunidade do receptor de insulina, prejudicando a ativação da fosfatidilinositol proteína 3-quinase e da proteína quinase B ou Akt, o que limita a captação de glicose pelas células, promovendo hiperglicemia, e conseqüentemente, produção de espécies reativas (CAPDOR et al., 2013; MARREIRO et al., 2017; VARDATSIKOS et al., 2013).

Deve-se chamar atenção para o fato de que a deficiência em zinco também induz estresse oxidativo por promover a ativação de vias pró-inflamatórias. Nesse sentido, a literatura mostra que o zinco parece regular a transcrição do fator nuclear kappa B, por meio da proteína antiinflamatória A20 e da via de sinalização do receptor

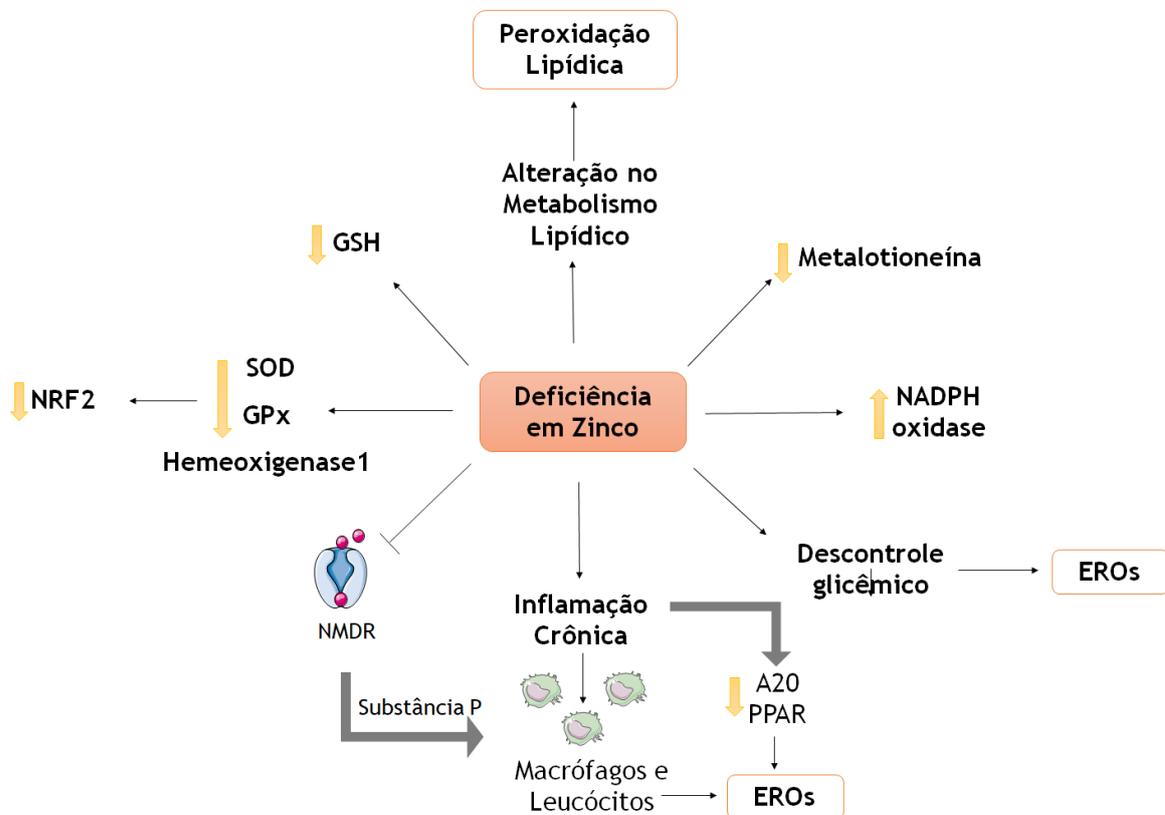
ativado por proliferador de peroxissoma- α (PPAR- α) (OLECHNOWICZ et al., 2018; PRASAD, 2014).

Além disso, o zinco atua como inibidor do NMDA, receptor envolvido no transporte de cálcio do meio extracelular para o citosol de células neuronais. A deficiência nesse mineral promove a ativação do NMDA e aumento excessivo da concentração intracelular de cálcio, promovendo liberação de substância P pelas células neuronais. Este mediador neural ativa leucócitos e macrófagos, que aumentam a liberação de citocinas inflamatórias e a produção de radicais livres (OTEIZA, 2012).

Destaca-se que além da inflamação e descontrole glicêmico, a deficiência em zinco favorece o estresse oxidativo por prejudicar o metabolismo lipídico, pois esse nutriente atua na transcrição da proteína de ligação do elemento regulatório de esteroide 1c, proteína que regula a transcrição de genes envolvidos na síntese lipídica no fígado, como acetil-CoA carboxilase 1, ácido graxo sintase e esteroil-CoA desaturase-1 (LI et al., 2013; OLECHNOWICZ et al., 2018).

O zinco atua ainda na sinalização do PPAR, que controla a expressão de genes envolvidos na adipogênese, metabolismo lipídico e inflamação, sendo sua deficiência associada ao comprometimento da função desse complexo fator de transcrição (AHMADIAN et al., 2013; LI et al., 2013; OLECHNOWICZ et al., 2018). Assim, a deficiência em zinco pode prejudicar tanto o metabolismo lipídico no fígado, quanto a função anti-inflamatória desse nutriente, o que contribui para ativar vias envolvidas na geração do estresse oxidativo. A figura 06 mostra o impacto da deficiência em zinco na indução do estresse oxidativo na obesidade.

Figura 06 – Impacto da deficiência em zinco na indução do estresse oxidativo na obesidade.



Legenda: A20: proteína A20; EROs: espécies reativas de oxigênio; GPx: glutatona peroxidase; GSH: γ -glutamilcisteinilglicina; H_2O_2 : peróxido de hidrogênio; NMDR: N-metil-D-aspartato; NRF2: fator nuclear eritróide associado ao fator 2; PPAR: receptor ativado por proliferador de peroxissoma; SOD: seuperóxido dismutase.

Fonte: Adaptado de Marreiro et al. (2017).

Diante da complexidade dos aspectos bioquímicos e moleculares envolvidos na patogênese da obesidade, da existência de alterações metabólicas importantes nessa doença, a exemplo do estresse oxidativo, bem como a deficiência de alguns minerais nesse grupo populacional, este estudo teve como objetivo avaliar a associação entre biomarcadores minerais (magnésio, selênio e zinco) e a defesa antioxidante na perspectiva da obtenção de respostas científicas mais consistentes sobre a efetiva participação de tais nutrientes no controle de distúrbios relevantes associados à obesidade.

Objetivos

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Avaliar a associação entre biomarcadores minerais (magnésio, selênio e zinco) e o sistema de defesa antioxidante em mulheres obesas.

3.2 Objetivos Específicos

- Caracterizar a adiposidade corporal e visceral;
- Estimar o consumo alimentar de energia, macronutrientes, magnésio, selênio e zinco;
- Analisar parâmetros do controle glicêmico e perfil lipídico;
- Determinar as concentrações plasmáticas, eritrocitárias e urinárias de magnésio, selênio e zinco;
- Determinar a atividade eritrocitária de enzimas do sistema de defesa antioxidante;
- Analisar as concentrações séricas de leptina e cortisol e plasmáticas de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico.

Materiais e Métodos

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Caracterização do Estudo e Protocolo Experimental

Estudo transversal envolvendo mulheres com idade entre 20 e 50 anos, que foram distribuídas em: obesas (mulheres com índice de massa corpórea (IMC) ≥ 35 kg/m²) e eutróficas (mulheres com IMC entre 18,5 e 24,9 kg/m²). A amostra foi definida por meio de amostragem por conveniência, sendo as participantes recrutadas a partir da demanda espontânea de ambulatórios clínicos localizados no centro da cidade de Teresina – PI, com idade e situação sócioeconômica semelhante entre os grupos.

O ambulatório clínico, local de atendimento da população-fonte das participantes do estudo, realiza atendimentos de diversas especialidades clínicas, sendo frequentados por indivíduos de ambos os sexos com idades variadas, com destaque na área de endocrinologia, o que torna elevada a frequência de atendimentos à pacientes obesos. As mulheres constantes na amostra do presente estudo foram selecionadas a partir dessa população.

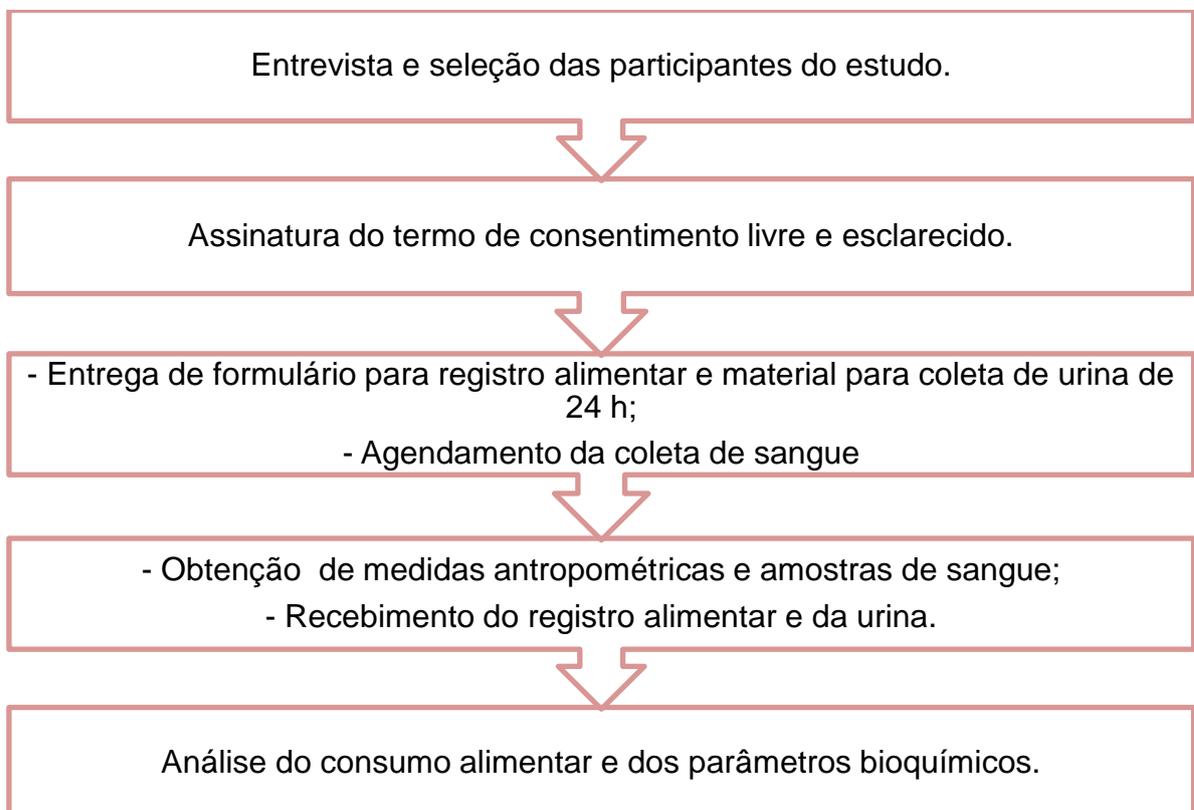
As participantes do estudo foram selecionadas por meio de entrevista, considerando os seguintes critérios de exclusão: gestante ou lactante; pós-menopausa; participantes de outros estudos clínicos; presença de comorbidades como diabetes *mellitus*, doença renal crônica, câncer e infecções recentes. Foram também excluídas mulheres em uso de suplemento vitamínico-mineral ou medicamentos que pudessem interferir no estado nutricional relativo aos minerais; fumantes e que apresentassem ingestão de álcool de forma crônica, sendo tais informações autorreferidas pelas participantes.

O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal do Piauí, sob número de parecer 2.014.100 (ANEXO A), conforme prevê a Resolução 466/12 do Conselho Nacional de Saúde (CNS) (BRASIL, 2012). As participantes receberam informações detalhadas sobre a pesquisa com linguagem adequada, conforme estabelece a Resolução 466/12 do Conselho Nacional de Saúde (BRASIL, 2012) e assinaram um termo de consentimento livre e esclarecido do estudo (APÊNDICE A), elaborado de acordo com a “Declaração de Helsinki III”, capítulo 50, parágrafos 50.20/27, que trata da proteção dos participantes e orienta procedimentos referentes às pesquisas que necessitam de experiências com humanos. Logo após

foi preenchida uma ficha de cadastro com as informações das participantes (APÊNDICE B).

Posteriormente, foram entregues formulários para o registro alimentar (APÊNDICE C) e material para coleta da urina de 24 horas (APÊNDICE D), bem como foram agendadas datas (1 semana depois da entrevista) para obtenção das medidas antropométricas (peso corporal, estatura e circunferência da cintura, do pescoço e do quadril), coleta de sangue e entrega do registro alimentar e urina de 24 horas. O fluxograma com os procedimentos realizados no estudo está esquematizado na Figura 7.

Figura 7: Fluxograma dos procedimentos realizados com as participantes do estudo.



Fonte: Elaborado pela autora.

4.2 Avaliação Antropométrica

Para a avaliação antropométrica, foi aferido o peso corporal, estatura, circunferência da cintura, do pescoço e do quadril, conforme metodologia descrita pelo Ministério da Saúde (BRASIL, 2004). Os dados antropométricos e demais informações das participantes foram anotados na ficha de cadastro da pesquisa (APÊNDICE B).

4.2.1 Peso Corporal e Estatura

O peso corporal foi determinado utilizando uma balança digital Plenna® (São Paulo, Brasil), modelo SIM09190, com capacidade máxima de 180 Kg, graduada em 100 gramas, estando as participantes do estudo descalças e usando roupas leves. A estatura das participantes foi mensurada com estadiômetro marca Seca® (São Paulo, Brasil), graduado em centímetros e com barra vertical e fixa, para posicionamento sobre a cabeça, estando as participantes descalças, com os pés unidos, em posição ereta, olhando para frente. O peso e a estatura foram medidos em triplicata para cada participante, sendo então obtida a média dessas medidas (NOLASCO, 1995).

4.2.2 Índice de Massa Corpórea

O IMC foi calculado a partir do peso da participante do estudo dividido por sua estatura elevada ao quadrado, conforme a equação 1 (WHO, 2000).

Equação 1. Índice de massa corpórea.

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

A classificação do estado nutricional a partir da distribuição do índice de massa corpórea foi realizada segundo a recomendação da *World Health Organization* (WHO, 2000).

4.2.3 Circunferência da Cintura

A medida da circunferência da cintura foi realizada com as participantes em pé, utilizando uma fita métrica não extensível marca Seca® (São Paulo, Brasil). Valores de circunferência da cintura ≥ 80 cm foram considerados como risco elevado para o desenvolvimento de complicações relacionadas à obesidade (WHO, 2008).

4.2.4 Circunferência do Quadril

Para o cálculo da relação cintura-quadril, foi aferida a circunferência do quadril. A medida da circunferência do quadril foi realizada com as participantes em pé, utilizando uma fita métrica marca Seca[®] (São Paulo, Brasil), flexível e não extensível, com precisão de 0,1 centímetros. A fita foi colocada ao redor do quadril, na área de maior diâmetro da região glútea. As participantes ficaram em posição ereta, braços afastados do corpo e com os pés juntos.

4.2.5 Relação Cintura-Quadril

A relação cintura-quadril foi calculada a partir da circunferência da cintura da participante dividido pela circunferência do quadril (WHO, 1998), segundo a fórmula abaixo:

Equação 2. Relação cintura-quadril.

$$RCQ = \frac{CC \text{ (cm)}}{CQ \text{ (cm)}}$$

Legenda: RCQ = relação cintura-quadril; CC = circunferência da cintura; CQ = circunferência do quadril.

Valores de relação cintura-quadril $\geq 0,85$ foram considerados como risco para doenças cardiovasculares (WHO, 1998).

4.2.6 Circunferência do Pescoço

A circunferência do pescoço foi aferida no ponto médio da coluna cervical até o meio-anterior do pescoço utilizando uma fita métrica marca Seca[®] (São Paulo, Brasil), flexível e não extensível, com precisão de 0,1 centímetros (BEN-NOUN et al., 2004).

4.2.7 Relação Cintura-Estatura

A relação cintura-estatura foi calculada a partir da circunferência da cintura da participante dividido pela estatura, segundo a fórmula a seguir (PITANGA; LESSA, 2006).

:

Equação 3. Relação cintura-estatura.

$$\text{RCE} = \frac{\text{CC (cm)}}{\text{E (cm)}}$$

Legenda: RCE= relação cintura-estatura; CC = circunferência da cintura; E = estatura.

4.2.8 Índice de Conicidade

O índice de conicidade foi calculado usando a seguinte fórmula:

Equação 4. Índice de conicidade.

$$\text{IC} = \frac{\text{CC (cm)}}{0,109\sqrt{P \text{ (kg)}}/E \text{ (m)}}$$

Legenda: IC= Índice de conicidade; CC = circunferência da cintura; P = peso; E = estatura.

Valores de índice de conicidade > 1,18 foram considerados como risco para doenças cardiovasculares (PITANGA; LESSA, 2004).

4.2.9 Índice de Formato Corporal

O índice de formato corporal foi calculado utilizando a fórmula a seguir (KRAKAUER; KRAKAUER, 2012):

Equação 5. Índice de formato corporal.

$$\text{IFC} = \frac{\text{CC (m)}}{\text{IMC}^{2/3} \sqrt{P \text{ (kg)}}/E \text{ (m)}}$$

Legenda: IFC= Índice de formato corporal; IMC= índice de massa corporal; CC = circunferência da cintura; P = peso; E = estatura.

4.2.10 Índice de Circularidade Corporal

O índice de circularidade corporal foi calculado por meio da fórmula:

Equação 6. Índice de circularidade corporal.

$$\text{ICC} = 364,5 - (365,5 \times e)$$

Legenda: ICC= Índice de circularidade corporal; e = excentricidade.

Onde excentricidade = $\sqrt{1 - (CC [cm]/4\pi)/(0,5 \times E[cm])}$. Valores de índice de circularidade corporal > 5,00 foram considerados como risco para doenças cardiovasculares (THOMAS et al., 2013).

4.2.11 Índice de Adiposidade Corporal

O índice de adiposidade corporal foi calculado a partir da fórmula: (BERGMAN et al., 2011).

Equação 7. Índice de adiposidade corporal.

$$IAC = (CC [cm] / E [m] 1,5) - 18$$

Legenda: IAC= Índice de adiposidade corporal; CC = circunferência da cintura; E = estatura.

4.2.12 Índice de Adiposidade Visceral

O índice de adiposidade visceral foi calculado usando a seguinte fórmula (AMATO et al., 2010):

Equação 8. Índice de adiposidade visceral.

$$IAV = (CC [cm]/36,58 + [1,89 \times IMC]) \times (TG [mmol/L]/0,81) \times (1,52/HDL[mmol/L])$$

Legenda: IAV= Índice de adiposidade visceral; CC = circunferência da cintura; IMC= índice de massa corporal; TG = triglicerídeos; HDL = lipoproteína de alta densidade.

4.3 Avaliação do Consumo Alimentar

O registro alimentar de três dias foi o método utilizado para análise da ingestão dietética, compreendendo dois dias alternados durante a semana e um dia no final de semana. No momento da entrega dos formulários, as participantes foram orientadas quanto à forma correta de anotar os alimentos, como discriminar os tipos de refeições, preparações, porcionamentos, medidas caseiras, quantidades e horários em que as mesmas foram consumidas.

As quantidades de energia, macronutrientes e minerais foram calculadas por meio do programa *Nutwin*, versão 1.5 (UNIFESP, São Paulo, SP, Brasil) (ANÇÃO et al., 2002). Os valores de EAR (*Estimated Average Requirement*) inclusos nas DRIs

(*Dietary Reference Intakes*) foram utilizados como padrão de referência para verificar adequação na ingestão destes nutrientes (IOM, 1997, 2000, 2001, 2005). Os alimentos não encontrados no programa foram incluídos tomando por base a Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (TACO, 2017) e a Tabela de Composição de Alimentos do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 2011).

Os valores de referência utilizados para os minerais foram: 255 mg de magnésio/dia para mulheres com idade de 19 a 30 anos e 265 mg de magnésio/dia para aquelas com mais de 30 anos (IOM, 1997); 45µg de selênio/dia (IOM, 2000) e 6,8 mg de zinco/dia (IOM, 2001).

Os valores da ingestão de energia, macronutrientes e minerais foram inseridos na plataforma online *Multiple Source Method* (MSM), versão 1.0.1, para ajustes da variabilidade intrapessoal e interpessoal, corrigida por técnicas de modelagem estatística, bem como para estimativa do consumo alimentar habitual desses nutrientes, por meio de análise de regressão logística (HAUBROCK et al., 2011; LAUREANO et al., 2016; MSM, 2011; SOUVEREIN et al., 2011). Este programa foi acessado por meio do website MSM (<https://nugo.dife.de/msm/>).

Os valores dietéticos de macronutrientes e minerais também foram ajustados em relação à energia por meio do método residual, evitando distorções geradas por diferenças no consumo energético. Após verificar a normalidade da distribuição dos dados, os valores de ingestão foram ajustados em relação à energia pelo cálculo do nutriente (FISBERG et al., 2005; JAIME et al., 2003; WILLETT; STAMPFER, 1986).

4.3.1 Análise dos Dados Dietéticos

Após verificar a normalidade da distribuição dos minerais, os valores de ingestão foram ajustados em relação à energia pelo cálculo do nutriente e corrigidos pela variabilidade intrapessoal e interpessoal, evitando distorções geradas por diferenças no consumo energético (FISBERG et al., 2005; JAIME et al., 2003; WILLETT; STAMPFER, 1986). O cálculo possui quatro etapas:

Inicialmente, foi realizada a análise de regressão linear simples, considerando-se o total de energia ingerida como variável independente e o valor absoluto do nutriente como variável dependente. Utilizando-se a equação geral da regressão linear, foi possível determinar a quantidade estimada de nutriente (Ye) que o indivíduo deveria consumir com a sua média de consumo de energia.

$$\text{Equação 9 : } Y_e = \beta_0 + \beta_1 \times \text{médiado consumo energético do indivíduo}$$

Onde:

β_0 = intercepto da regressão linear simples

β_1 = tangente

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

$$\text{Equação 10 : } Y_r = Y_o - Y_e$$

Por definição, o resíduo possui média zero e pode apresentar valores positivos e negativos. Com isso, faz-se necessária a adição de uma constante, que é estatisticamente arbitrária. Willett; Howe; Kushi (1997) propõem que a constante seja o consumo do nutriente estimado para a média do total de energia consumida pela população de estudo.

$$\text{Equação 11 : } Y_c = \beta_0 + (\beta_1 \times \text{médiado consumo energético da população})$$

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

$$\text{Equação 12: } Y_a = Y_r + Y_c$$

Após o ajuste por energia, os valores dos minerais foram corrigidos pela variabilidade intrapessoal e interpessoal. Foi feita a análise de variância One-way ANOVA, para se obter o coeficiente de correlação corrigido pela variação intrapessoal e interpessoal. Por meio da média quadrática intrapessoal fornecida pela ANOVA tem-se o valor da variância intrapessoal (S_{intra}^2), inerentes ao consumo de zinco (SLATER; MARCHIONI; FISBERG, 2004).

$$S_{\text{intra}}^2 = MQ_{\text{intra}}$$

Onde,

MQ_{intra} = Média quadrática intrapessoal

Além da variância intrapessoal também foi calculada a variância interpessoal (S_{inter}^2):

$$S_{inter}^2 = (MQ_{inter} - S_{intra}^2) / K$$

Onde,

MQ_{inter} = Média quadrática interpessoal

K = número de dias de aplicação de inquérito alimentar

Em seguida, foi calculado a variância total (S_{obs}) da distribuição observada, que é dada pela diferença das variâncias intra e interpessoal:

$$S_{obs} = S_{inter}^2 - S_{intra}^2 / K$$

Onde,

S_{obs} = variância total

S_{intra} = variância intrapessoal

S_{inter} = variância interpessoal

Posteriormente, para remover a variância intrapessoal, foi utilizada a equação proposta pelo *US National Academy of Science Subcommittee on Criteria for Dietary Evaluation*:

$$\text{Valor ajustado do nutriente} = \text{média} + (x_1 - \text{média}) \times S_{inter} / S_{obs}$$

Onde:

Média = valor médio de ingestão do grupo

x_1 = valor de ingestão de cada indivíduo

Utilizando a fórmula acima foi feita a distribuição dos minerais ajustado do grupo, com redução do desvio padrão. A EAR utilizada foi utilizada para as mulheres na faixa etária entre 19 e 50 anos (INSTITUTE OF MEDICINE, 1997; 2000; 2001; 2005).

4.4 Coleta do Material Biológico

Amostras de 18,5 mL de sangue venoso foram coletadas no período da manhã, entre 7 e 9 horas, estando as participantes em jejum mínimo de 12 horas. Foram fornecidos frascos desmineralizados para a coleta de urina de 24h, que foram pesados antes e após a coleta em balança semianalítica (Marte, modelo AS 5000, São Paulo, SP, Brasil) para a determinação do volume urinário a partir da densidade. Em seguida, foram retirados 8 mL de urina e distribuídos em quatro microtubos de polipropileno, que foram armazenados em *freezer* a -20°C para posterior análise dos minerais zinco e selênio. O volume restante foi acidificado com ácido clorídrico a 3 mol/L e homogeneizado para evitar a precipitação do magnésio e para melhor preservação do mineral na urina (ELIN, 1987). Posteriormente, foram retirados 4 mL de urina e distribuídos em dois microtubos, os quais foram conservados em *freezer* a -20°C .

4.5 Determinação dos Parâmetros Bioquímicos dos Minerais

4.5.1 Controle da Contaminação e Preparo dos Reagentes

A fim de garantir o controle de contaminação por minerais, toda a vidraria e material de polipropileno utilizados para as análises foram desmineralizados segundo metodologia do Instituto Adolfo Lutz (1985). Os reagentes foram preparados e diluídos em água livre de íons processada pelo Milli-Q[®]Water System (Millipore, Massachusetts, EUA).

4.5.2 Separação dos Componentes do Sangue

O plasma foi separado do sangue total por centrifugação (CIENTEC[®] 4K15, São Paulo, Brasil) a $1831\times g$ durante 15 minutos a 4°C . Em seguida, o plasma foi extraído com pipeta automática e acondicionado em microtubos de polipropileno, sendo posteriormente conservados a -20°C .

Para separação dos eritrócitos, e subsequente determinação dos minerais, foram utilizados os métodos propostos por Whitehouse et al. (1982). A massa eritrocitária foi lavada 3 vezes com 5 mL de solução salina isotônica (NaCl a 0,9%),

sendo cuidadosamente homogeneizada por inversão e centrifugada (CIENTEC® 4K15, São Paulo, Brasil) a 2493xg por 10 minutos e o sobrenadante aspirado e descartado. Após a última centrifugação, a solução salina foi descartada e a massa eritrocitária foi extraída cuidadosamente com o auxílio de uma pipeta automática e transferida para microtubos, que foram mantidos à temperatura de – 20°C para análise posterior.

4.5.3 Determinação dos Parâmetros Bioquímicos do Magnésio, Selênio e Zinco

As análises das concentrações plasmáticas, eritrocitárias e urinárias foram realizadas no Laboratório de Espectrometria de Emissão Atômica - Embrapa (Centro Nacional de Pesquisa de Milho e Sorgo), localizado em Sete Lagoas – Minas Gerais. A análise elementar dos minerais foi realizada em espectrômetro de plasma indutivamente acoplado - Espectrometria de Emissão Óptica com uma configuração de vista axial e um nebulizador V-Groove (720 ICP/OES, Varian Inc., Califórnia, Estados Unidos) utilizando sistema de gerador de hidretos (NABH 4) montado sobre uma plataforma V-Groove com nebulizador do tipo Babington, com orifício de gás de 70 mm acoplado (BŁAŻEWICZ et al., 2015; HARRINGTON et al., 2014; NIEDZIELSKI; SIEPAK, 2003). O aparelho foi configurado com as seguintes condições experimentais: Potência: 1,4 kW; Fluxo de plasma (gás): 15 L/min; Fluxo de gás auxiliar: 1,5 L/min; Tipo de câmara de spray: ciclônica; e Fluxo do nebulizador: 0,7 L/min.

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

Os limites de detecção foram determinados a partir da equação: 3 x desvio padrão de 10 medições do branco, dividido pela declividade da curva de calibração. Amostras de material de referência certificado (Seronom ® Oligoelement Serum, Noruega) foram determinadas para validar as medições analíticas em ICP-OES.

Os valores de referência adotados foram: 0,75 a 1,05 mmol/L para magnésio plasmático (TOPF; MURRAY, 2003), 1,65 a 2,65 mmol/L para magnésio eritrocitário, 3,00 a 5,00 mmol/dia para magnésio urinário (TIETZ, 1995), 75 a 110 µg/dL para zinco plasmático (GIBSON, 2005), 40 a 44 µg/gHb para zinco eritrocitário (GUTHRIE; PICCIANO, 1994), 300-600 µg/24 horas para zinco urinário (GIBSON, 2005), 80 a 95 µg/L para selênio plasmático (para maximização da atividade da glutathione peroxidase plasmática) (THOMSON, 2004) e 0,18 a 0,55 µg/gHb para selênio eritrocitário (VITOUX; ARNAUD; CHAPPUIS, 1999).

4.5.4 Determinação da Concentração de Hemoglobina

A concentração de hemoglobina na massa eritrocitária foi determinada conforme o método da cianometahemoglobina, para expressar as concentrações de minerais eritrocitários (VAN ASSENDELFT, 1972). Esse método se baseia na reação de oxidação do Fe^{+2} do grupo heme da hemoglobina pelo ferricianeto, e posterior reação com o cianeto de potássio para formar cianeto de hemoglobina. Inicialmente, em um microtubo contendo 300 µL de massa eritrocitária foi adicionado 900 µL de água ultrapura, perfazendo um lisado com proporção 1:4. Em seguida, a uma alíquota de 20 µL desse lisado foi acrescentado 5 mL de solução de Drabkin (Labtest®, Brasil). A leitura da absorbância foi realizada em espectrofotômetro UV visível (Bel Photonics®, SP1102) considerando o comprimento de onda de 540 nm.

4.6 Determinação da Atividade de Enzimas Antioxidantes

A atividade das enzimas glutathione peroxidase e superóxido dismutase nos eritrócitos foi avaliada em analisador bioquímico automático (modelo *Labmax 240*, Lagoa Santa, Mg, Brasil); utilizando-se kit *Ransel 505* (Laboratório *Randox*, Crumlin, Reino Unido), de acordo com metodologia proposta por Paglia e Valentine (1967) e kit *Ransod* (Laboratório *Randox*, Crumlin, Reino Unido), respectivamente, conforme metodologia recomendada pelo fabricante. O método se baseia na reação em que a glutathione peroxidase catalisa a oxidação da glutathione reduzida por um hidroperóxido. Na presença de glutathione peroxidase e NADPH, a glutathione oxidada é imediatamente convertida à forma reduzida com a oxidação concomitante do NADPH em NADH+. A leitura das amostras foi realizada em absorbância de 340 nm.

Para determinação da glutathiona peroxidase, foram adicionados a 50 μL da amostra 1 mL do diluente fornecido pelo kit, e após 5 minutos de incubação à temperatura ambiente, adicionou-se 1 mL de drabkin concentrado. A concentração de hemoglobina do hemolisado foi determinada para expressar a atividade enzimática em unidades de enzima por grama de hemoglobina (U/g Hg). Foram usados os valores de referência propostos pela *Randox* para atividade da glutathiona peroxidase (27,5 a 73,6 U/gHg) e superóxido dismutase (1.102 a 1.601 U/gHg).

A atividade da catalase foi determinada em espectrofotômetro *Bel Photonics* UV/Vis (modelo SF200DM, Osasco, SP, Brasil) a 240 nm, segundo método proposto por Aebi (1984), que se baseia no decaimento da absorvância decorrente da redução de H_2O_2 a água, pela catalase presente na amostra, medido durante tempo de 30 segundos. Para o meio de reação, utilizou-se a solução de peróxido de hidrogênio (30 mM) em tampão fosfato de sódio e potássio 50 mM (pH 7,0). Em uma cubeta de quartzo, foram adicionados 1 mL de solução de H_2O_2 e 2 mL da diluição da amostra. A atividade enzimática foi expressa em mmol de H_2O_2 consumido por minuto e grama por grama de hemoglobina ($\text{mmol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}/\text{g Hb}$).

4.7 Determinação das Concentrações Plasmáticas de Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico

A determinação das concentrações plasmáticas de TBARS foi realizada segundo método proposto por Ohkawa; Ohishi; Yagi (1979). A curva de calibração foi preparada utilizando as concentrações de 0,5; 1,0; 2,0; 4,0 e 8,0 nmol/mL do reagente padrão 1,1,3,3-tetraetoxiproprano (Sigma-Aldrich®).

Em microtubos contendo 200 μL de plasma e um com 200 μL de água destilada (branco), foram adicionados 350 μL de ácido acético pH 3,5 e 600 μL de ácido tiobarbitúrico 0,5%, diluído em ácido acético. As amostras foram preparadas em triplicata. Em seguida, os tubos foram incubados em banho-maria, com sistema de agitação a 85°C por uma hora e, após esse período, submetidos a banho de gelo por 15 minutos.

Após o resfriamento, 50 μL de dodecil sulfato de sódio a 8,1% foram adicionados aos tubos, procedendo-se à centrifugação por 15 minutos a 13201xg a 25°C. O sobrenadante foi extraído e a absorvância foi medida em comprimento de onda de 532nm, utilizando espectrofotômetro *Bel Photonics* UV/Vis (modelo 1102,

Osasco, SP, Brasil). Os resultados foram expressos em nmol de malondialdeído por mL.

4.8 Determinação de Parâmetros do Controle Glicêmico

4.8.1 Concentração Sérica de Glicose de Jejum

As determinações das concentrações séricas de glicose de jejum foram realizadas por método enzimático colorimétrico, utilizando-se os kits *Labtest*. Foram considerados normais, os valores de glicose de jejum entre 75 e 99 mg/dL, segundo os critérios definidos pela *American Diabetes Association* (ADA, 2017).

4.8.2 Concentração Sérica de Insulina

As concentrações séricas de insulina foram analisadas utilizando o método de quimioluminescência, sendo considerados os valores de referência os valores entre 6 e 27 $\mu\text{U/mL}$.

4.8.3 Concentração Plasmática de Hemoglobina Glicada

As concentrações plasmáticas de hemoglobina glicada foram conduzidas pelo método de cromatografia de troca iônica, sendo os valores inferiores a 5,7% considerados normais, segundo a *American Diabetes Association* (ADA, 2017).

4.8.4 Caracterização da Resistência à Insulina

A fórmula: $(\text{insulina } [\mu\text{U/mL}] \times \text{glicose } [\text{mmol/L}]) / 22,5$ foi utilizada para o cálculo dos valores de *Homeostasis Model Assessment Insulin Resistance* (HOMA-IR). O índice HOMA- β foi calculado usando o programa *HOMA Calculator, Versão 2.2.3*, 2017. Foi considerado que valores de HOMA-IR acima de 2,71 ou do HOMA- β acima de 1,8 eram indicativos de resistência à insulina (MATTHEWS et al., 1985; WALLACE et al., 2004).

4.9 Determinação do Perfil Lipídico

As concentrações séricas de colesterol total, LDL-colesterol, HDL-colesterol, VLDL e triglicérides foram conduzidas segundo método enzimático colorimétrico, em analisador bioquímico automático Cobas Integra (*Roche Diagnostics*, Brasil), utilizando kits *Roche*. A fração LDL-colesterol foi calculada de acordo com a fórmula de Friedwald et al. (1972): $LDL-c = CT - HDL-c - TG/5$, sendo válida para valores de triglicérides até 400 mg/dL. A fração não-HDL-colesterol foi calculada por meio da diferença entre os valores de colesterol total e HDL-colesterol. Os valores para lipídios séricos definidos na Atualização da Diretriz Brasileira de Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose – 2017 foram utilizados como padrão de referência (FALUDI et al., 2017).

4.10 Determinação das Concentrações Séricas de Cortisol e Leptina

A avaliação da concentração de cortisol sérico foi realizada pelo método de eletroquimioluminescência, utilizando como padrão de referência valores entre 6,23 – 18,01 µg/dL no turno da manhã (NIEMAN et al., 2008). A determinação da concentração sérica de leptina foi conduzida segundo método de radioimunoensaio, utilizando kit Elisa.

4.11 Análise Estatística

4.11.1 Tratamento a dados faltantes

Considerando o número de dados ausentes no banco de dados, sendo 4,8% no grupo controle e 15,8% no grupo de obesas, optou-se por realizar um processo de imputação de dados, com o objetivo de “completar” o banco e possibilitar a análise com todos os indivíduos do estudo. O método imputação única foi utilizado para o grupo de variáveis com dados ausentes menores que 15%, e a imputação múltipla, quando houve mais de 15% de perda de dados, segundo Harrel Jr. (2001).

As imputações única e múltipla foram realizadas pelo método *Predictive Mean Matching* (PMM), o qual é indicado para variáveis quantitativas. Para imputação única por meio deste método, foram conduzidas três etapas (LITTLE, 1988): (1) estimação

de um modelo de regressão, sendo que a variável de interesse (a imputar) foi a variável resposta e as variáveis recolhidas restantes foram as explicativas; (2) estimação do valor da variável de interesse para os sujeitos com o dado omissos; (3) emparelhamento do valor da variável de interesse predito, para os sujeitos com o dado omissos, com o valor ajustado mais próximo (feito a partir do cálculo da distância euclidiana). No caso em que houve mais de um valor ajustado com distância igual à distância mínima encontrada, foi escolhido aleatoriamente o valor a imputar, dentre os que sofreram empate.

A imputação múltipla por PMM foi baseada nos mesmos princípios que a anteriormente descrita, exceto que em vez de se gerar apenas um valor, foram gerados vários. Depois de realizadas as imputações múltiplas, as estimativas gerais para os valores foram obtidas pela média dos valores imputados ($m=5$). Como os métodos de imputação usados neste estudo são baseados em análise de regressão linear, foi necessário definir variáveis que seriam usadas para imputação. Sob a suposição de que os dados ausentes têm mecanismo de não-resposta MAR (*Missing at Random*), variáveis explicativas que tinham uma relação mais próxima com as variáveis respostas foram incluídas nos modelos.

Para realizar as imputações únicas e as imputações múltiplas, foram utilizadas a função criada por Andreozzi (2013) e o pacote *Multivariate Imputation by Chained Equations* (MICE), respectivamente. Ambos os processos foram realizados no programa R (R Development Core Team, 2019).

4.11.2 Análise dos Dados

A pressuposição de normalidade das variáveis foi avaliada por meio do teste de *Kolmogorov-Smirnov* e teste *Shapiro-Wilk*. A comparação entre os grupos foi conduzida utilizando os testes *t de Student* ou *Mann-Whitney*, dependendo da normalidade dos dados. A análise de correlação entre as variáveis foi realizada por meio dos coeficientes de *Pearson* ou *Spearman*. A análise de regressão múltipla foi utilizada para identificação dos fatores associados ao estresse oxidativo. Os testes foram considerados significativos quando os valores de $p < 0,05$.

4.12 Apresentação dos Resultados

Os resultados da tese serão apresentados em capítulos, nos quais constam três artigos em formato exigido pelos periódicos escolhidos.

REFERÊNCIAS

- AEBI, H. Catalase *in vitro*. **Methods in Enzymology**, v. 105, p. 121-126, 1984.
- AFANAS'EV, I. B.; SUSLOVA, T. B.; CHEREMISINA, Z. P.; ABRAMOVA, N. E.; KORKINA, L. G. Study of antioxidant properties of metal aspartates. **The Analyst**, v. 120, n. 1, p. 859-62, 1995.
- AHMADIAN, M.; SUH, J. M.; HAH, N.; LIDDLE, C.; ATKINS, A. R.; DOWNES, M.; EVANS, R. M. PPAR γ signaling and metabolism: the good, the bad and the future. **Nature Medicine**, v.19, n.5, p.557-66, 2013.
- ALASFAR, F.; BEN-NAKHI, M.; KHOURSHEED, M.; KEHINDE, E. O.; ALSALEH, M. Selenium is significantly depleted among morbidly obese female patients seeking bariatric surgery. **Obesity Surgery**, v. 21, n. 11, p. 1710-13, 2011.
- AL-HAMODI, Z.; AL-HABORI, M.; AL-MEERI, A.; SAIF-ALI, R. Association of adipokines, leptin/adiponectin ratio and C-reactive protein with obesity and type 2 diabetes mellitus. **Diabetology & Metabolic**, v. 6, n. 99, p. 99, 2014.
- ALMONDES, K. G. S.; LEAL, G. V. S.; COZZOLINO, S. M. F.; PHILIPPI, S. T.; RONDÓ, P. H. C. O papel das selenoproteínas no câncer. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v.56, n.4, p.484-8, 2010.
- AMATO, M.C.; GIORDANO, C.; GALIA, M.; CRISCIMANNA, A.; VITABILE, S.; MIDIRI, M. et al. Visceral Adiposity Index: a reliable indicator of visceral fat function associated with cardiometabolic risk. **Diabetes Care**, v. 33; n. 4; p. 920-2, 2010.
- AMERICAN DIABETES ASSOCIATION (ADA). Standards of Medical Care in Diabetes. **Diabetes Care**, Alexandria, v. 35, n. 1, p. S11-S63, 2017.
- AMIRKHIZI, F.; SIASSI, F.; DJALALI, M.; SHAHRAKI, S. H. Impaired enzymatic antioxidant defense in erythrocytes of women with general and abdominal obesity. **Obesity Research & Clinical Practice**, v. 8, n.1, p. e26-34, 2014.
- ANÇÃO, M. S.; CUPPARI, L.; DRAINE, A. S.; SINGULEM, D. **Programa de apoio à nutrição Nutwin: versão 1.5**. São Paulo: Departamento de Informática em Saúde, SPDM, Unifesp/EPM, 2002. 1 CDROM.
- ANDRADE, J. P.; NOBRE, F. VI Diretriz Brasileira de Hipertensão. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 95, n. 1, p. 1-51, 2010.
- ANDREOZZI, V. L. R. **Function**, 2013. Disponível em: <aleskaandreoZZi.weebly.com/scripts-in-r.html>
- ANDREWS, G.K. Regulation of metallothionein gene expression by oxidative stress and metal ions. **Biochemical Pharmacology**, v. 59, 95–104, 2000.

- APOSTOLOPOULOS, V.; COURTEN, M. P. J.; STOJANOVSKA, L. et al. The complex immunological and inflammatory network of adipose tissue in obesity. **Molecular Nutrition & Food Research**, v. 60, n. 1, p. 43-57, 2016.
- ARNAUD, J.; BERTRAIS, S.; ROUSSEL, A. M.; ARNAULT, N.; RUFFIEUX, D.; FAVIER, A. et al. Serum selenium determinants in French adults: the SU.VI.M.AX study. **British Journal of Nutrition**, v. 95, n. 2, p. 313-20, 2006.
- ARNER, P.; KULYTÉ, A. MicroRNA regulatory networks in human adipose tissue and obesity. **Nature Reviews Endocrinology**, v. 11, n. 5, p. 276-88, 2015.
- ATABEK, M. E.; KURTOGLU, S.; PIRGON, O. Possible effect of leptin on renal magnesium excretion in adolescent patients with type 1 diabetes. **Pediatrics International**, v. 48, n. 4, p. 393-7, 2006.
- AUGSBURGERA, F.; FILIPPOVAA, A.; RASTIA, D.; SEREDENINA, T.; LAM, M.; MAGHZAL, G. et al. Pharmacological characterization of the seven human NOX isoforms and their inhibitors. **Redox Biology**, v. 26, n. 1, 2019.
- AVERY, J. C.; HOFFMANN, P. R. Selenium, Selenoproteins, and Immunity. **Nutrients**, v.1, n. 10, p. E1203, 2018.
- AYDEMIR, T. B.; CHANG, S. M.; GUTHRIE, G.J.; MAKI, A.B.; RYU, M.S., KARABIYIK, A. et al. Zinc transporter zip14 functions in hepatic zinc, iron and glucose homeostasis during the innate immune response (endotoxemia). **Plos One**, v. 7, p. e48679, 2012.
- AZAB, S. F. A.; SALEH, S. H.; ELSAEED, W. F.; ELSHAFIE, M. A.; SHERIEF, L. M.; ESH, A. M. H. Serum trace elements in obese Egyptian children: a case-control study. **Italian Journal of Pediatrics**, v. 40, n. 20, p. 1-7, 2014.
- BAAIJ, J. H. F.; HOENDEROP, J. G. J.; BINDELS, R. J. M. Magnesium in man: implications for health and disease. **Physiological Reviews**, v. 95, n. 1, p. 1-46, 2015.
- BAAIJ, J. H. The art of magnesium transport. **Magnesium Research**, v. 28, n. 3, p. 85-91, 2015.
- BARAKAT, G. M.; NOUSTAFA, M. E.; BIKHASI, A. B. Effects of selenium and exendin-4 on glucagon-like peptide-1 receptor, IRS-1, and RAF-1 in the liver of diabetic rats. **Biochemical Genetics**, v. 50, n. 11-12, p. 922-35, 2012.
- BARBAGALLO, M.; DOMINGUEZ, L. J. Magnesium metabolism in type 2 diabetes mellitus, metabolic syndrome and insulin resistance. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 458, n. 1, p. 40-7, 2007.
- BARBOSA, K. B. F.; COSTA, N. M. B.; ALFENAS, R. C. G.; PAULA, S. O.; MINIM, V. P. R.; BRESSAN, J. Estresse oxidativo: conceito, implicações e fatores modulatórios. **Revista de Nutrição**, v. 23, n.4, 2010.

BEGIN-HEICK, N.; DALPE-SCOTT, M.; ROWE, J.; HEICK, H. M. Zinc supplementation attenuates insulin secretory activity in pancreatic islets of the ob/ob mouse. **Diabetes**, v.34, n.2, p.179-84, 1985.

BELIN, R. J.; HE, K. Magnesium physiology and pathogenic mechanisms that contribute to the development of the metabolic syndrome. **Magnesium Research**, v.20, n.2, p.107-129, 2007.

BELLINGER, F. P.; RAMAN, A. V.; REEVES, M. A.; BERRY, M. J. Regulation and function of selenoproteins in human disease. **Biochemical Journal**, v. 422, n.1, p. 11-22, 2009.

BEN-NOUN, L.; LAOR, A. Relationship between changes in neck circumference and changes in blood pressure. **American Journal of Hypertension**, v. 17, n. 5, p. 409-14, 2004.

BERGMAN, R. N.; STEFANOVSKI, D.; BUCHANAN, T. A.; SUMNER, A. E.; REYNOLDS, J. C.; SEBRING, N. G. et al. A better index of body adiposity. **Obesity**, v. 19, n. 5, p. 1083-9, 2011.

BERTINATO, J.; XIAO, C. W.; RATNAYAKE, W. M. N.; FERNANDEZ, L.; LAVERGNE, C.; WOOD, C. et al. Lower serum magnesium concentration is associated with diabetes, insulin resistance, and obesity in South Asian and white Canadian women but not men. **Food & Nutrition Research**, v. 59, n. 103402, p. 1-9, 2015.

BESERRA, J. B.; MORAIS, J. B. S. ; SEVERO, J. S. ; CRUZ, K. J. C. ; OLIVEIRA, A. R. S. et al. No association between zinc and thyroid activity in obese women. **International Journal for Vitamin and Nutrition Research**, 2019. *In press*.

BIRBEN, E.; SAHINER, U. M.; SACKESSEN, C.; ERZURUM, S.; KALAYCI, O. Oxidative stress and antioxidant defense. **World Allergy Organ Journal**, v. 5, n. 1, p. 9-19, 2012.

BŁAŻEWICZ, A.; KLATKA, M.; ASTEL, A.; KORONA-GLOWNIAK, I.; DOLLIVER, W.; SZWERC, W. et al. Serum and urinary selenium levels in obese children: a cross-sectional study. **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology**, v. 29, n. 1, p.116-22, 2015.

BONDIA-PONS, I.; RYAN, L.; MARTINEZ, J. A. Oxidative stress and inflammation interactions in human obesity. **Journal of Physiology and Biochemistry**, v. 68, n. 4, p. 701-11, 2012.

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

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. **Vigilância alimentar e nutricional - Sisvan: Orientações básicas para a coleta, processamento, análise de dados e informação em serviços de saúde**. Brasília: Ministério da Saúde, 2004.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Análise em Saúde e Vigilância de Doenças Crônicas não Transmissíveis. **Vigitel Brasil 2018: vigilância de fatores de risco e proteção para doenças crônicas por inquérito telefônico: estimativas sobre frequência e distribuição sociodemográfica de fatores de risco e proteção para doenças crônicas nas capitais dos 26 estados brasileiros e no Distrito Federal em 2018**. Brasília: Ministério da Saúde, 2019.

BRASIL. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística – IBGE. **Pesquisa de orçamentos familiares 2008–2009: análise do consumo alimentar pessoal no Brasil**. Rio de Janeiro: IBGE, Coordenação de Trabalho e Rendimento, 2011.

BRENNEISEN, P.; STEINBRENNER, H.; SIES, H. Selenium, oxidative stress, and health aspects. **Molecular Aspects of Medicine**, v. 26, n. 4-5, p. 256-67, 2005.

BUSSEROLLES, J.; GUEUX, E.; ROCK, E.; MAZUR, A.; RAYSSIGUIER, Y. High fructose feeding of magnesium deficient rats is associated with increased plasma triglyceride concentration and increased oxidative stress. **Magnesium Research**, v. 16, n. 1, p. 7-12, 2003.

BUSSIÈRE, L.; MAZUR, A.; GUEUX, E.; NOWACKI, W.; RAYSSIGUIER, Y. Triglyceride-rich lipoproteins from magnesium-deficient rats are more susceptible to oxidation by cells and promote proliferation of cultured vascular smooth muscle cells. **Magnesium Research**, v. 8, n. 2, p. 151-7, 1995.

CALVIELLO, G.; RICCI, P.; LAURO, L.; PALOZZA, P.; CITTADINI, A. Mg deficiency induces mineral content changes and oxidative stress in rats. **International Journal of Biochemistry and Molecular Biology**, v. 32, n. 5, p. 903-11, 1994.

CAMPBELL, S. C.; ALDIBBIAT, A.; MARRIOTT, C. E.; LANDY, C.; ALI, T.; FERRIS, W. F. et al. Selenium stimulates pancreatic beta-cell gene expression and enhances islet function. **FEBS Letter**, v. 582, n. 15, p. 2333-7, 2008.

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

CASTRO, M.S.; SOUZA, A.E.S.; MARTINS, T.C.L.; SAMPAIO, F. A.; MORAIS, J. B. S.; SEVERO, J. S. et al. Concentrações Dietéticas de Vitaminas Antioxidantes (A, C e E) e Relação com Marcador do Estresse Oxidativo em Diabéticos Tipo 2. **Nutrição em Pauta**, v. 22, p. 22-27, 2014.

CELIK, S.; TANGI, F.; KILICASLAN, E.; SANISOGLU, Y. S.; OKTENLI, C.; TOP, C. Increased Acylation Stimulating Protein Levels in Young Obese Males Is Correlated With Systemic Markers of Oxidative Stress. **Obesity**, v. 21, p. 1613-1617, 2013.

CHAUDHARY, D. P.; SHARMA, R.; BANSAL, D. D. Implications of magnesium deficiency in type 2 diabetes: a review. **Biological Trace Element Research**, v. 134, n. 2, p. 119–29, 2010.

CHEN, M.S.; XU, A. W. M.; ZHANG, D. Association of abdominal obesity, insulin resistance, and oxidative stress in adipose tissue in women with polycystic ovary syndrome. **Reproductive Endocrinology**, v. 102, n. 4, p. 1167-1174, 2014.

CODOÑER-FRANCH, P.; LÓPEZ-JAÉN, A. B.; DE LA MANO-HERNÁNDEZ, A.; SENTANDREU, E.; SIMÓ-JORDÁ, R.; VALLS-BELLÉS, V. Oxidative markers in children with severe obesity following low-calorie diets supplemented with mandarin juice. **Acta Paediatrica**, v. 99, n. 12, p. 1841-6, 2010.

COMINETTI, C.; BORTOLI, M. C.; ABDALLA, D. S. P.; COZZOLINO, S. M. F. Considerations about oxidative stress, selenium and nutrigenetics. **Nutrire**, v. 36, n. 3, p. 131-53, 2011.

COMINETTI, C.; DE BORTOLI, M. C.; GARRIDO JR, A. B.; COZZOLINO, S. M. Brazilian nut consumption improves selenium status and glutathione peroxidase activity and reduces atherogenic risk in obese women. **Nutrition Research**, v. 32, n. 6, p. 403-7, 2012.

CRUZ, K. J. C.; OLIVEIRA, A. R., PINTO, D. P., MORAIS, J. B., LIMA, F. S., COLLI, C. et al. Influence of Magnesium on Insulin Resistance in Obese Women. **Biological Trace Element Research**, v. 160, n. 3, p. 305-310, 2014.

DAS, U. N. Beneficial actions of magnesium in metabolic syndrome: Why and how? **Nutrition**, v. 32, n. 11-12, p. 1-13, 2016.

DEEPTI, R.; NALINI, G. Relationship between Hypomagnesemia and Dyslipidemia in Type 2 Diabetes Mellitus. **Asian Journal of Pharmaceutical Research and Health Care**, v. 6, n. 3, 2014.

DENIS, G. V.; OBIN, M. S. Metabolically healthy obesity: origins and implications. **Molecular Aspects of Medicine**, v. 34, n. 1, p. 59-70, 2013.

EIDE, D.J. The oxidative stress of zinc deficiency. **Metallomics**, v. 3, p. 1124–1129, 2011.

ELIN, R. J. Assessment of magnesium status. **Clinical Chemistry**, v. 33, n. 11, p. 1965-1970, 1987.

FALUDI, A. A.; IZAR, M. C. O.; SARAIVA, J. F. K.; CHACRA, A. P. M.; BIANCO, H. T.; AFIUNE NETO, A. et al. Atualização da diretriz brasileira de dislipidemias e prevenção da aterosclerose. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 109, n. 2, p. 1-76, 2017.

FEITOSA, M. C. P.; LIMA, V. B. S.; MARREIRO, D. N. Participation of Inflammation on Zinc Metabolism in Obesity. **Nutrire**, v.37, n.1, p. 93-104, 2012.

FEITOSA, M. C. P.; LIMA, V. B.; MOITA NETO, J. M.; MARREIRO, D. N. Plasma Concentration of IL-6 and TNF- α and its Relationship with Zincemia in Obese Women. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 59, n. 5, p. 429–434, 2013.

FEITOSA, M. M.; FONTENELLE, L. C.; MORAIS, J. B. S.; SEVERO, J. S.; FREITAS, T. E. C.; ARAÚJO, C. O. D. et al. Selenium Status and its Relation to Markers of Oxidative Stress in Obese Women. **Revista de Alimentação Humana**, 2017. *In press*.

FERNÁNDEZ-SÁNCHEZ, A.; MADRIGAL-SANTILLÁN, E.; BAUTISTA, M.; ESQUIVEL-SOTO, J.; MORALES-GONZÁLEZ, A.; ESQUIVEL-CHIRINO, C. et al. Inflammation, Oxidative Stress, and Obesity. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 12, n. 5, p. 3117–3132, 2011.

FERREIRA, K. S.; GOMES, J. C.; BELLATO, C. R.; JORDÃO, C. P. Concentrações de selênio em alimentos consumidos no Brasil. **Revista Panamericana de Salud Publica**, v. 11, n. 03, p. 172-7, 2002.

FERRO, F. E. D.; LIMA, V. B. S.; SOARES, N. R. M.; COZZOLINO, S. M. F.; MARREIRO, D. N. Biomarkers of Metabolic Syndrome and its Relationship with the Zinc Nutritional Status in Obese Women. **Nutrición Hospitalaria**, v. 6, n. 3, p. 650-4, 2011.

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

FONTENELLE, L. C.; FEITOSA, M. M.; MORAIS, J. B. S.; SEVERO, J. S.; FREITAS, T. E. C.; BESERRA, J. B. et al. The role of selenium in insulin resistance. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 54, n.1, p. e001392018, 2018.

FOSTER, M.; SAMMAN, S. Zinc and Redox Signaling: Perturbations Associated with Cardiovascular Disease and Diabetes Mellitus. **Antioxidants & Redox Signaling**, v.13, n.10, p. 1549-73, 2010.

FOSTER, M.; SAMMAN, S. Zinc and Regulation of Inflammatory Cytokines: Implications for Cardiometabolic Disease. **Nutrients**, v. 4, n. 7, p. 676-94, 2012.

FRIEDEWALD, W. T.; LEVY, R. I.; FREDRICKSON, D. S. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. **Clinical Chemistry**, v. 18, n. 6, p. 499-502, 1972.

GADDE, K. M.; MARTIN, C. K.; BERTHOUD, H. R. et al. Obesity: Pathophysiology and Management. **Journal of the American College of Cardiology**, v. 71, n. 1; p. 69 - 84, 2018.

GALAN-CHILET, I.; TELLEZ-PLAZA, M.; GUALLAR, E.; DE MARCO, G.; LOPEZ-IZQUIERDO, R.; GONZALEZ-MANZANO, I. et al. Plasma Selenium Levels and Oxidative Stress Biomarkers: a Gene-Environment Interaction Population-Based Study. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 74, n. 1, p. 229-36, 2014.

GATÉ, K.M.; LARLAUD, I.; GIUMMELLY, P.; LEGRAND, R.; POMPELLA, A.; LEROY, P. Accurate measurement of reduced glutathione in gamma-glutamyl transferase-rich brain microvessel fractions. **Brain Research**, v. 1369, p. 95-102, 2011.

GHABEN, A. L., SCHERER, P. E. Adipogenesis and metabolic health. **Nature Reviews Molecular Cell Biology**, v. 20, n. 4, p. 242-258, 2019.

GIBSON, R.S. **Assessment of chromium, copper and zinc status**. In: GIBSON, R.S. Principles of Nutritional Assessment, New York: Oxford University Press: cap.24, p.711-30, 2005.

GOMMERS, L. M.; HOENDEROP, J. G.; BINDELS, R. J.; DE BAAIJ, J. H. Hypomagnesemia in Type 2 Diabetes: A Vicious Circle. **Diabetes**, v. 65, n. 1, p. 3-13, 2016.

GOOSSENS, G. H. The Metabolic Phenotype in Obesity: Fat Mass, Body Fat Distribution, and Adipose Tissue Function. **Obesity facts**, v. 10, n. 1, p. 207–215, 2017.

GREGOR, M. F.; HOTAMISLIGIL, G. S. Inflammatory mechanisms in obesity. **Annual Review of Immunology**, v. 29, n.1, p. 29:415-45, 2011.

GUERRERO-ROMERO, F.; FLORES-GARCÍA, A.; SALDAÑA-GUERRERO, S.; SIMENTAL-MENDÍA, L. E.; RODRÍGUEZ-MORÁN, M. 2016 Obesity and hypomagnesemia. **European Journal of Internal Medicine**, v. 34, n. 1, p. 29-33, 2016.

GUERRERO-ROMERO, F.; RODRÍGUEZ-MORÁN, M. Serum Magnesium in the Metabolically-Obese Normal-Weight and Healthy-Obese Subjects. **European Journal of Internal Medicine**, v. 24, n. 7, p. 639-43, 2013.

GÜNTHER, V.; LINDERT, U. The taste of heavy metals: Gene regulation by MTF-1. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1823, p. 1416–1425, 2012.

GUTHRIE, H. A.; PICCIANO, M. F. **Micronutrient minerals**. In: Guthrie. HA, Picciano MF eds. Human Nutrition, p. 351-7, 1994.

HAHN; G. F.; OLIVEIRA, J. R.; BOCK, P. M. O papel do fator nuclear eritróide 2 relacionado ao fator 2 (Nrf2) no diabetes mellitus. **Clinical & Biomedical Research**, v. 37, n. 3, p. 203-213, 2017.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. The importance of free radicals and catalytic metal ions in human diseases. **Molecular Aspects of Medicine**, v. 8, n. 2, p. 89-193, 1985.

HAN, T. W.; KATO, M.; XIE, S.; WU, L. C.; MIRZAEI, H.; PEI, J. et al. Cell-free formation of RNA granules: bound RNAs identify features and components of cellular assemblies. **Cell**, p. 149, n. 4, p.768-79, 2012.

HARRELL Jr, F. E. Regression modeling strategies: with applications to linear models, logistic regression and survival analysis. **Springer** – Verlag, New York, 2001.

HASSAN, S. A.; AHMED, I.; NASRULLAH, A.; HAQ, S.; GHAZANFAR, H.; SHEIKH, A. B.; ZAFAR, R.; ASKAR, G.; HAMID, Z.; KHUSHDIL, A.; KHAN, A. Comparison of

Serum Magnesium Levels in Overweight and Obese Children and Normal Weight Children. **Cureus**, v. 9, n. 8, p. e1607, 2017.

HAUBROCK, J.; NÖTHLINGS, U.; VOLATIER, J. L.; DEKKERS, A.; OCKÉ, M. et al. Estimating usual food intake distributions by using the multiple source method in the EPIC-Potsdam Calibration Study. **The Journal of Nutrition**, v. 141, n. 5, p. 914-920, 2011.

HELMERSSON, J.; ARNLÖV, J.; VESSBY, B.; LARSSON, A.; ALFTHAN, G.; BASU, S. Serum Selenium Predicts Levels of F2-isoprostanes and Prostaglandin F2alpha in a 27 Year Follow-Up Study of Swedish Men. **Free Radical Research**, v. 39, n. 7, p. 763-70, 2005.

HENEGAR, C.; TORDJMAN, J.; ACHARD, V.; LACASA, D.; CREMER, I.; GUERREMILLO, M. et al. Adipose tissue transcriptomic signature highlights the pathological relevance of extracellular matrix in human obesity. **Genome Biology**, v. 9, n. 1, p. R14, 2008.

HESKETH, J. Nutrigenomics and selenium: gene expression patterns, physiological targets, and genetics. **Annual Review of Nutrition**, v. 28, p. 157-77, 2008.

HEYMSFIELD, S. B.; WADDEN, T. A. Mechanisms, Pathophysiology, and Management of Obesity. **The New England Journal of Medicine**, v. 19, n. 3, 254 – 266, 2017.

HOSSEINI, B.; SAEDISOMEOLIA, A.; ALLMAN-FARINELLI, M. Association Between Antioxidant Intake/Status and Obesity: a Systematic Review of Observational Studies. **Biological Trace Element Research**, v. 175, n. 2, p. 287-297, 2017.

HUBER, P. C.; ALMEIDA, W. P. Glutathiona e Enzimas Relacionadas: Papel Biológico e Importância em Processos Patológicos. **Química Nova**, v. 31, p. 1170-9, 2008.

IGHODARO, O. M.; AKINLOYE, O. A. First line defence antioxidants-superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX): Their fundamental role in the entire antioxidant defence grid. **Alexandria Journal of Medicine**, v. 54, n. 4, p. 287-293, 2018.

INSTITUTE OF MEDICINE. FOOD AND NUTRITION BOARD. **Dietary Reference Intakes for Calcium, Phosphorus, Magnesium, Vitamin D and Fluoride**. Washington, DC: National Academy Press: 1997.

INSTITUTE OF MEDICINE. FOOD AND NUTRITION BOARD. **Dietary Reference Intakes for Energy, Carbohydrate, Fiber, Fat, Fatty Acids, Cholesterol, Protein, and Amino Acids**. Washington, DC: National Academy Press: 2005.

INSTITUTE OF MEDICINE. **Dietary Reference Intakes for Vitamin A, Vitamin K, Arsenic, Boron, Chromium, Copper, Iodine, Iron, Manganese, Molybdenum, Nickel, Silicon, Vanadium, and Zinc**. Washington, DC: National Academy Press, 2001.

INSTITUTE OF MEDICINE. **Dietary reference intakes for Vitamin C, Vitamin E, Selenium, and Carotenoids**. Washington, DC: National Academy Press, 2000.

JAIME, P. C.; LATORRE, M. R. D. O.; FORNÉS, N. S.; ZERBINI, C. A. F. Comparative study among two methods for energy adjustment for nutrient intake. **Nutrire**, v.26, n.único, p.11-8, 2003.

KRAKAUER, N. Y. KRAKAUER, J. C. A new body shape index predicts mortality hazard independently of body mass index. **PLoS One**, v. 7, n. 7, p. e39504, 2012.

KIEŁCZYKOWSKA M.; KOCOT, J.; PAŹDZIOR, M.; MUSIK, I. Selenium - a fascinating antioxidant of protective properties. **Advances in Clinical and Experimental Medicine**, v. 27, n. 2, p. 245-255, 2018.

KIM, J.; AHN, J. Effect of Zinc Supplementation on Inflammatory Markers and Adipokines in Young Obese Women. **Biological Trace Element Research**, v. 157, n. 2, p. 101-6, 2014.

KIMMONS, J. E.; BLANCK, H. M.; TOHILL, B. C.; ZHANG, J.; KHAN, L. K. Associations between body mass index and the prevalence of low micronutrient levels among US adults. **Medscape General Medicine**, v. 8, n. 04, p. 59, 2006.

KOSTELLOW, A.B.; MORRILL, G. A. Iron catalyzed lipid peroxidation in aortic cells in vitro: protective effect of extracellular magnesium. **Atherosclerosis**, v. 175, p. 15-22, 2004.

KNIGHT, Z.A.; HANNAN, K.S.; GREENBERG, M.L.; FRIEDMAN, J.M. Hyperleptinemia is required for the development of leptin resistance. **PLoS One**, v.5, n.6, p. 1- 8, 2010.

KNOBELSPIES, H.; ZEIDLER, J.; HEKERMAN, P.; LEMPER-BAMBERG, S.; BECKER, W. Mechanism of attenuation of leptina signaling under chronic ligand stimulation. **BMC Biochemistry**, v.11, n. 2, p. 1-12, 2010.

LABUNSKYY, V. M.; HATFIELD, D. L.; GLADYSHEV, V. N. Selenoproteins: molecular pathways and physiological roles. **Physiological Reviews**, v. 94, n. 03, p. 739-77, 2014.

LAUREANO, G. H. C.; TORMAN, V. B.; CRISPIM, S. P.; DEKKERS, A. L.; CAMEY, S. A. Comparison of the ISU, NCI, MSM, and SPADE methods for estimating usual intake: a simulation study of nutrients consumed daily. **Nutrients**, v. 8, n. 3, p. 166, 2016.

LAY, S. L.; SIMARD, G.; MARTINEZ, M. C.; ANDRIANTSITOHAINA, R. Oxidative stress and metabolic pathologies: from an adipocentric point of view. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2014, p.1-18, 2014.

LECUBE, A.; BAENA-FUSTEGUERAS, J. A.; FORT, J. M.; PELEGRÍ, D., HERNÁNDEZ, C.; SIMÓ, R. Diabetes is the main factor accounting for hypomagnesemia in obese subjects. **Plos One**, v. 7, n. 1, p. 1-7, 2012.

- LI, Y. V. Zinc and insulin in pancreatic beta-cells. **Endocrine**, v. 45, n. 2, p. 178-89, 2014.
- LITTLE, R. J. Missing-Data Adjustments in Large Surveys. **Journal of Business & Economic Statistics**. v. 6, n. 3, p. 287–96, 1988.
- LIUZZI, J. P.; LICHTEN, L. A.; RIVERA, S.; BLANCHARD, R. K.; AYDEMIR, T. B.; KNUTSON, M. D. et al. Interleukin-6 regulates the zinc transporter Zip14 in liver and contributes to the hypozincemia of the acute-phase response. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 102, n. 1, p. 6843-8, 2005.
- LONGO, M.; ZATTERALE, F.; NADERI, J.; PARRILLO, L.; FORMISANO, P.; RACITI, G. A. et al. Adipose Tissue Dysfunction as Determinant of Obesity-Associated Metabolic Complications. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 20, n. 9, p. pii: E2358, 2019.
- MA, J.; ZHAO, N. ZHU, D. Biphasic responses of human vascular smooth muscle cells to magnesium ion. **Journal Biomedical Materials Research Part A**, v.104, n.2, p. 347-356, 2016.
- MAIER, J. A. M. Endothelial cells and magnesium: implications in atherosclerosis. **Clinical Science**, v. 122, n. 9, p. 397–407, 2012.
- MANNA, P.; JAIN, S. K. Obesity, Oxidative Stress, Adipose Tissue Dysfunction, and the Associated Health Risks: Causes and Therapeutic Strategies. **Metabolic Syndrome and Related Disorders**, v.13, n.10, p.423-44, 2015.
- MARREIRO, D. N.; CRUZ, K. J. C. ; MORAIS, J. B. S.; BESERRA, J. B. ; SEVERO, J. S.; OLIVEIRA, A. R. S. Zinc and Oxidative Stress: Current Mechanisms. **Antioxidants**, v. 6, n. 2, p. 24; 2017.
- MARREIRO, D. N.; FISBERG, M.; COZZOLINO, S. M. Zinc nutritional status in obese children and adolescents. **Biological Trace Element Research**, v. 86, n. 1, p. 107-22, 2002.
- MARSEGLIA, L.; MANTI, S.; D'ANGELO, G.; NICOTERA, A.; PARISI, E.; DI ROSA, G. et al. Oxidative stress in obesity: a critical component in human diseases. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 16, n. 1, p. 378-400, 2014.
- MARTINS, L. M.; OLIVEIRA, A. R. S.; CRUZ, K. J. C.; ARAÚJO, C. G. B.; OLIVEIRA, F. E.; SOUSA, G. S. et al. Influence of cortisol on zinc metabolism in morbidly obese women. **Nutricion Hospitalaria**, v. 29, n. 1, p. 57-63, 2014.
- MARTINS, L. M.; OLIVEIRA, A. R. S.; CRUZ, K. J. C.; MORAIS, J. B. S.; SEVERO, J. S.; FREITAS, T. E. **Considerações sobre a Influência do Cortisol no Metabolismo do Zinco na Obesidade**. *Nutrición Clínica y Dietética Hospitalaria*, v. 35, n. 3, p. 83-88, 2015.
- MATTHEWS, D. R.; HOSKER, J. P.; RUDENSKI, A. S.; NAYLOR, B. A.; TREACHER, D. F.; TURNER, R. C. Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-

cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. **Diabetologia**, v. 28, n. 7, p. 412-419, 1985.

MATOUŠKOVÁ, P., HANOUSKOVÁ, B.; SKÁLOVÁ, L. MicroRNAs as Potential Regulators of Glutathione Peroxidases Expression and Their Role in Obesity and Related Pathologies. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 19, n. 4, p. pii: E1199, 2018.

MATTMILLER, S. A.; CARLSON, B. A.; SORDILLO, L. M. Regulation of inflammation by selenium and selenoproteins: impact on eicosanoid biosynthesis. **Journal of Nutritional Science**, v. 2, n.1, p. 1-13, 2013.

MAURIZI, G.; DELLA GUARDIA, L.; MAURIZI, A. et al. Adipocytes properties and crosstalk with immune system in obesity-related inflammation. **Journal of Cellular Physiology**, v. 233, n. 1, p. 88-97, 2018.

MAZUR, A.; MAIER, J. A. M.; ROCK, E.; GUEUX, E.; NOWACKI, W.; RAYSSIGUIER, Y. Magnesium and the inflammatory response: potential physiopathological implications. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 458, n. 1, p. 48-56, 2007.

MOOREN, F. C.; KRÜGER, K.; VÖLKER, K.; GOLF, S. W.; WADEPUHL, M.; KRAUS, A. Oral magnesium supplementation reduces insulin resistance in non-diabetic subjects – a double-blind, placebo-controlled, randomized trial. **Diabetes, Obesity and Metabolism**, v.13, n. 3, p. 281–84, 2011.

MORAIS, J. B. S.; SEVERO, J. S.; OLIVEIRA, A. R. S.; CRUZ, K. J. C.; DIAS, T. M. S.; ASSIS, R. C. et al. Magnesium Status and Its Association with Oxidative Stress in Obese Women. **Biological Trace Elem Research**, v. 175, n. 1, p. 306–311, 2017.

MORENO-INDIAS, I.; TINAHONES, F. J. Impaired Adipose Tissue Expandability and Lipogenic Capacities as Ones of the Main Causes of Metabolic Disorders. **Journal of Diabetes Research**, v. 2015, n. 970375, p. 1-12, 2015.

MRAZ, M.; HALUZIK, M. The role of adipose tissue immune cells in obesity and low-grade inflammation. **Journal of Endocrinology**, v. 222, n. 3, p. R113-27, 2014.

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

MURER, S.B.;AEBERLI, I .; BRAEGGER, C. P.; GITTERMANN, M.; HERSBERGER, M.; LEONARD, S. W.; TAYLOR, A. W.; TRABER, M. G.; ZIMMERMANN, M. B.Antioxidant supplements reduced oxidative stress and stabilized liver function tests but did not reduce inflammation in a randomized controlled trial in obese children and adolescents. **The Journal of Nutrition**, v. 144, n. 2, p. 193-201, 2013.

NAIR, A. V.; HOCHER, B.; VERKAART, S.; VAN ZEELAND, F.; PFAB, T., SLOWINSKI, T., et al. Loss of insulin-induced activation of TRPM6 magnesium channels results in impaired glucose tolerance during pregnancy. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 109, n. 28, p. 11324-9, 2012.

NIELSEN, F. H. Magnesium deficiency and increased inflammation: current perspectives. **Journal of Inflammation Research**, v. 11, p. 25–34, 2018.

NIRANJAN, G.; ANITHA, D.; SRINIVASAN, A. R.; VELU, V. K.; VENKATESH, C.; BABU, M. S. et al. Association of Inflammatory Sialoproteins, Lipid Peroxides and Serum Magnesium Levels with Cardiometabolic Risk Factors in Obese Children of South Indian Population. **International Journal of Biomedical Science**, v. 10, n. 2, p. 118–123, 2014.

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

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

OHKAWA, H.; OHISHI, N.; YAGI, K. Assay of lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. **Analytical Biochemistry**, v. 95, p. 351–358, 1979.

OLECHNOWICZ, J.; TINKOV, A.; SKALNY, A.; SULIBURSKA, J. Zinc status is associated with inflammation, oxidative stress, lipid, and glucose metabolism. **The Journal of Physiological Sciences**, v. 68, n. 1, p. 19-31, 2018.

OLIVEIRA, A. R. S. ; CRUZ, K. J. C. ; MORAIS, J. B. S. ; SEVERO, J. S.; BESERRA, J. B. ; SANTOS, L. R. et al. Association Between Magnesium and Oxidative Stress in Patients with Obesity. **Current Nutrition & Food Science**, v. 16, n. 1, p. 1-6, 2019.

OLIVEIRA, A. R. S.; CRUZ, K. J. C.; MORAIS, J. B. S.; SEVERO, J. S.; FREITAS, T. E. C.; VERAS, A.L. et al. Magnesium Status and Its Relationship with C-Reactive Protein in Obese Women. **Biological Trace Element Research**, v. 168, n. 2, p. 296-302, 2015.

OTEIZA, P. I. Zinc and the modulation of redox homeostasis. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 53, n. 1, p. 1748-1759, 2012.

OTTAVIANO, F. G.; HANDY, D. E.; LOSCALZO, J. Redox regulation in the extracellular environment. **Circulation Journal**, v.72, n. 1, p. 1-16, 2008.

PAGLIA, D. E.; VALENTINE, W. N. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. **Journal of Laboratory & Clinical Medicine**, v. 70, n. 1, p. 159-69, 1967.

PANDEY, G.; SHIHABUDEEN, M. S.; DAVID, H. P.; THIRUMURUGAN, E.; THIRUMURUGAN, K. Association between hyperleptinemia and oxidative stress in obese diabetic subjects. **Journal of Diabetes & Metabolic Disorders**, v.14, n.24, 2015.

PARK, S.; KIM, M.; PAIK, J. K.; JANG, Y, LEE, S. AND LEE, J. H. Oxidative stress is associated with C-reactive protein in nondiabetic postmenopausal women, independent of obesity and insulin resistance. **Clinical Endocrinology**, v. 79, n. 1, p. 65-70, 2013.

PATEL, M. D. P.; KISHORE, K.; PATEL, D. J. Evaluation of oxidative stress and serum magnesium levels in South Indian obese males. **International Journal of Scientific Research**, v. 3, p. 229–230, 2014.

PRASAD, A. S. Zinc is an antioxidant and anti-inflammatory agent: its role in human health. **Frontiers in Nutrition**, v. 1, n. 14, 1–10, 2014.

PITANGA, F. J. G.; LESSA, I. Razão cintura-estatura como discriminador do risco coronariano de adultos. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 52, n. 1, p. 157-61, 2006.

R DEVELOPMENT CORE TEAM. **R: A Language and Environment for Statistical Computing**. Vienna, Austria: the R Foundation for Statistical, 2019. Computing. ISBN: 3-900051-07-0. URL <http://www.R-project.org/>.

RAMALINGAM, L.; MENIKDIWELA, K.; LEMIEUX, M.; DUFOUR, J. M.; KAUR, G. ; KALUPAHANA, N. et al. The renin angiotensin system, oxidative stress and mitochondrial function in obesity and insulin resistance. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1863, n. 5, p. 1106-1114, 2017.

RANI, V.; DEEP, G.; SINGH, R.K.; PALLE, K.; YADAV, U.C. Oxidative stress and metabolic disorders: Pathogenesis and therapeutic strategies. **Life Sciences**, v. 1, n. 148, p. 183-93, 2016.

RAYMAN, M. P. Selenium and human health. **Lancet**, v. 379, n. 9822, p. 1256-68, 2012.

ROCHA, V. S; ROSA, F. B. D.; RUANO, R.; ZUGAIB, M.; COLLI, C. Association between magnesium status, oxidative stress and inflammation in preeclampsia: a case control study. **Clinical Nutrition**, v. 34, n. 6, p. 1166-71, 2015.

ROCHETTE, L.; LORIN, J.; Zeller, M.; Guillard, J.; Lorgis, L.; Cottin, Y. et al. Nitric oxide synthase inhibition and oxidative stress in cardiovascular diseases: Possible therapeutic targets? **Pharmacology & Therapeutics**, v.140, n. 3, p. 239-257, 2013.

ROMANI, A. M. P. Cellular magnesium homeostasis. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 512, n. 1, p. 1-23, 2011.

RONSEINI, G. E.; MIYAMOTOI, S.; BECHARAI, E.; MASCIO, M. D.; MARTINEZ, I. G. R. Oxidação de proteínas por oxigênio singlete: mecanismos de dano, estratégias para detecção e implicações biológicas. **Química Nova**, v. 29, n.3, 2006.

ROVER JUNIOR, L.; HOEHR, N. F.; VELLASCO, A. P.; KUBOTA, L. T. Sistema antioxidante envolvendo o ciclo metabólico da glutatona associado a métodos eletroanalíticos na avaliação do estresse oxidativo. **Química Nova**, v. 24, n.1, pp.112-119, 2001.

- RUPÉREZ, A. I.; GIL, A.; AGUILERA, C. M. Genetics of Oxidative Stress in Obesity. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 15, p. 3118-3144, 2014.
- RUZ, M.; CARRASCO, F.; ROJAS, P.; CODOCEO, J.; INOSTROZA, J.; BASFIFER, K. et al. Zinc as a potential coadjuvant in therapy for type 2 diabetes. **Food and Nutrition Bulletin**, v. 34, n. 2, p. 215-221, 2013.
- SAMPAIO, F. A.; FEITOSA, M. M.; SALES, C. H.; SILVA, D.M.C.; CRUZ, K. J. C.; OLIVEIRA, F. E. et al. Influence of magnesium on biochemical parameters of iron and oxidative stress in patients with type 2 diabetes. **Nutrición Hospitalaria**, v. 30, n. 3, p. 570-6, 2014.
- SARMIENTO, D.; MONTORFANO, I.; CERDA, O.; CÁCERES, M., BECERRA, A.; CABELLO-VERRUGIO, C. et al. Increases in reactive oxygen species enhance vascular endothelial cell migration through a mechanism dependent on the transient receptor potential melastatin 4 ion channel. **Microvascular Research**, v. 98, p. 187-96, 2015.
- SAVINI, I.; CATANI, M. V.; EVANGELISTA, D.; GASPERI, V.; AVIGLIANO, L. Obesity-associated oxidative stress: strategies finalized to improve redox state. **International Journal of Molecular Sciences**, v.14, n. 5, p. 10497-538, 2013.
- SCHOMBURG, L.; SCHWEIZER, U. Hierarchical regulation of selenoprotein expression and sex-specific effects of selenium. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1790, n.11, p. 1453-62, 2009.
- SEVERO, J. S.; MORAIS, J. B. S.; FREITAS, T. E. C.; CRUZ, K. J. C.; OLIVEIRA, A. R. S.; POLTRONIERI, F. et al. **Nutrición Clínica y Dietética Hospitalaria**, v. 35, n. 2, p. 67-74, 2015.
- SIES, H. On the history of oxidative stress: Concept and some aspects of current development. **Current Opinion in Toxicology**, v. 7, p. 122-126, 2018.
- SIES, H. Oxidative stress: a concept in redox biology and medicine. **Redox Biology**, n. 4, p. 180–183, 2015.
- SONG, C. H.; CHOI, W. S.; OH, H. J.; KIM, K. Associations of serum minerals with body mass index in adult women. **European Journal of Clinical Nutrition**, v. 61, n. 5, p. 682-685, 2007.
- SOUVEREIN, O. W.; DEKKERS, A. L.; GEELEN, A.; HAUBROCK, J.; DE VRIES, J. H.; OCKÉ, M. C et al. Comparing four methods to estimate usual intake distributions. **European Journal of Clinical Nutrition**, v. 65, Suppl 1:S92-101, 2011.
- STARK, A.A.; PORAT, N.; VOLOHONSKY, G.; KOMLOSH, A.; BLUVSHTEIN, E.; TUBI, C.; STEINBERG, P. The role of gamma-glutamyl transpeptidase in the biosynthesis of glutathione. **Biofactors**, v. 17, n. 1-4, p. 139-49, 2003.

STEINBRENNER, H.; SPECKMANN, B.; KLOTZ, L. O. Selenoproteins: antioxidant selenoenzymes and beyond. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 595, n. 1, p. 113-9, 2016.

STENZEL, A. P.; CARVALHO, R.; JESUS, P.; BULL, A.; PEREIRA, S.; SABOYA, C. et al. Serum Antioxidant Associations with Metabolic Characteristics in Metabolically Healthy and Unhealthy Adolescents with Severe Obesity: An Observational Study. **Nutrients**, v. 10, n. 2, p. 1-9, 2018.

TACO. **Tabela Brasileira de Composição de Alimentos**. 5. ed. Campinas, SP: NEPA-UNICAMP, 2017.

TAM, H.K.; KELLY, A.S.; METZIG, A.M.; STEINBERGER, J.; JOHNSON, L.A. Xanthine oxidase and cardiovascular risk in obese children. **Childhood Obesity**. v. 10, n. 2, p. 175-80, 2014.

TAN, B. L.; NORHAIZAN, M. E.; LIEW, W. P.; SULAIMAN RAHMAN, H. Antioxidant and Oxidative Stress: A Mutual Interplay in Age-Related Diseases. **Frontiers in Pharmacology**, v. 16, n. 9:1162, 2018.

TIETZ, N. W. **Clinical guide to laboratory test**. 3 ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company, 1995.

TOPF, J. M.; MURRAY, P. T. Hypomagnesemia and hypermagnesemia. **Reviews in Endocrine and Metabolic Disorders**, v. 4, n. 2, p. 195-206, 2003.

THOMSON, C. D. Assessment of requirements for selenium and adequacy of selenium status: a review. **European Journal of Clinical Nutrition**, v.58, n.3, p.391-402, 2004.

TOHIDI, M., GHASEMI, A.; HADAEGH, F.; ARBABI, S.; HOSSEINI, I. F. Intra-erythrocyte magnesium is associated with gamma-glutamyl transferase in obese children and adolescents. **Biological Trace Element Research**, v.143, n. 2, p. 835-43, 2011.

TOUAT- HAMICI, Z.; LEGRAIN, Y.; BULTEAU, A. L.; CHAVATTE, L. Selective up-regulation of human selenoproteins in response to oxidative stress. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 289, n. 21, p. 14750-6, 2014.

TRAYHURN P. Hypoxia and adipose tissue function and dysfunction in obesity. **Physiological Reviews**, v. 93, n. 1, p. 1-21, 2013.

TSAI, J. P. The association of serum leptin levels with metabolic diseases. **Tzu Chi Medical Journal**, v. 29, n. 4, p. 192-196. 2017.

UNAMUNO, X.; GÓMEZ-AMBROSI, J.; RODRÍGUEZ, A.; BECERRIL, S.; FRÜHBECK, G.; CATALÁN, V. Adipokine dysregulation and adipose tissue inflammation in human obesity. **European Journal of Clinical Investigation**, v. 48, n. 9, p. e12997, 2018.

VALKO, M.; RHODES, C. J.; MONCOL, J.; IZAKOVIC, M.; MAZUR, M. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. **Chemico-Biological Interactions**, v. 160, n. 1, p.1-40, 2006.

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

VARDATSIKOS, G.; PANDEY, N.R.; SRIVASTAVA, A.K. Insulino-mimetic and anti-diabetic effects of zinc. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 120, n. 1, p. 8-17, 2013.

VIEIRA-POTTER, V. J. Inflammation and macrophage modulation in adipose tissues. **Cell Microbiology**, v, 16, n. 10, p. 1484-92, 2014.

VITOUX, D.; ARNAUD, J.; CHAPPUIS, P. Are copper, zinc and selenium in erythrocytes valuable biological indexes of nutrition and pathology? **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology**, v. 13, n. 03, p.113-28, 1999.

VOLPE, S. L. Magnesium in disease prevention and overall health. **Advances in Nutrition**, v. 4, n. 3, p. 378S-83S, 2013.

WALLACE, T. M.; LEVY, J. C.; MATTHEWS, D. R. Use and abuse of HOMA modeling. **Diabetes Care**, v. 27, n. 6, p. 1487-95, 2004.

WAROLIN, J.; COENEN, K. R.; KANTOR, J. L.; WHITAKER, L. E.; WANG, L.; ACRA, S. A. et al. The relationship of oxidative stress, adiposity and metabolic risk factors in healthy Black and White American youth. **Pediatric Obesity**, v. 9, n. 1, p. 43-52, 2014.

WEEKS, B. S.; HANNA, M. S.; COOPERSTEIN, D. Dietary selenium and selenoprotein function. **Medical Science Monitor**, v. 18, n. 8, p. 127-132, 2012.

WENSVEEN, F. M.; VALENTIC, S.; SESTAN, M.; WENSVEEN, T.; POLIĆ, B. The "Big Bang" in obese fat: events initiating obesity-induced adipose tissue inflammation. **European Journal of Immunology**, v. 45, n. 9, p. 2446-56, 2015.

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

WILLETT, W. C.; HOWE, G. R.; KUSHI, L. H. Adjustment for total energy intake in epidemiologic studies. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 65, suppl. 4, p. 1220S-1228S, 1997.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Fact sheet on obesity and overweight**. 2018. Disponível em: www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/en. Acesso em: 11/05/19.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Obesity: Preventing and managing the global epidemic. Report of a WHO Consultation on Obesity**. Genebra (Suíça), 1998.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Obesity: Preventing and managing the global epidemic**. Technical report series, Geneva, n. 894, p. 9, 2000.

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

XIA, N.; HORKE, S.; HABERMEIER, A.; CLOSS, E. I.; REIFENBERG, G.; GERICKE, A. et al. Uncoupling of Endothelial Nitric Oxide Synthase in Perivascular Adipose Tissue of Diet-Induced Obese Mice. **Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology**, v. 36, n. 1, 2016.

ZHANG, H.; FORMAN, H.J.; CHOI, J. Gamma-glutamyl transpeptidase in glutathione biosynthesis. **Methods in Enzymology**, v. 401, p. 468-83, 2005.

ZHANG, Q.; CHEN, L.; GUO, K.; ZHENG, L.; LIU, B.; YU, W. et al. Effects of different selenium levels on gene expression of a subset of selenoproteins and antioxidative capacity in mice. **Biological Trace Element Research**, v.154, n. 2, p. 255-61, 2013.

ZHANG, Z.; ZHOU, S.; JIANG, X.; WANG, Y.; LI, F.; WANG, Y. et al. The role of the Nrf2/Keap1 pathway in obesity and metabolic syndrome. **Reviews in Endocrine and Metabolic Disorders**, v.16, n. 1, p. 35-45, 2015.

ZHELTOVA, A. A.; KHARITONOVA, M. V.; IEZHITSA, I. N.; SPASOV, A. A. Magnesium deficiency and oxidative stress: an update. **Biomedicine**, v. 6, n. 4, p. 20, 2016.

ZHONG, Q.; LIN, R.; NONG, Q. Adiposity and Serum Selenium in U.S. Adults. **Nutrients**, v. 10, n. 6, p. 1-11, 2018.

ZHOU, T.; YAN, X.; WANG, G.; LIU, H.; GAN, X.; ZHANG, T. et al. Evolutionary Pattern and Regulation Analysis to Support Why Diversity Functions Existed within PPAR Gene Family Members. **BioMed Research International**, v. 2015, n. 613910, p. 1-11, 2015.

ZHU, K.; NIE, S.; LI, C.; HUANG, J.; HU, X.; LI, W.; GONG, D. et al. Antidiabetic and pancreas-protective effects of zinc threoninate chelate in diabetic rats may be associated with its antioxidative stress ability. **Biological Trace Element Research**, v. 153, n. 1-3, p. 291-8, 2013.

Resultados e Discussão

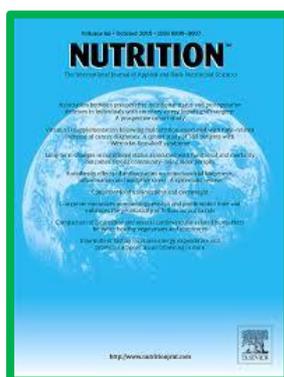
Capítulo 1

Artigo Científico: Impacto da Deficiência dos Minerais (Magnésio, Selênio e Zinco) no Sistema de Defesa Antioxidante em Mulheres Obesas

Periódico: *Nutrition*

Qualis: B2 na área Ciência dos Alimentos

Fator de impacto: 3.591



IMPACTO DA DEFICIÊNCIA DOS MINERAIS (MAGNÉSIO, SELÊNIO E ZINCO) NO SISTEMA DE DEFESA ANTIOXIDANTE EM MULHERES OBESAS

Ana Raquel Soares de Oliveira; Kyria Jayanne Clímaco Cruz; Jennifer Beatriz Silva Morais; Loanne Rocha dos Santos; Stéfany Rodrigues de Sousa Melo; Larissa Cristina Fontenelle; Suelem Torres de Freitas; Gustavo Santos de Sousa; Carla Soraya Costa Maia; Emídio Marques de Matos Neto; Francisco Erasmo de Oliveira; Silvana Auxiliadora Bordin da Silva; Carlos Henrique Nery Costa; Gilberto Simeone Henriques; Dilina do Nascimento Marreiro.

Resumo

A literatura tem evidenciado deficiência em magnésio, selênio e zinco em indivíduos com obesidade, com prejuízo na realização de suas funções fisiológicas, o que parece comprometer o sistema de defesa antioxidante endógeno em organismos obesos. Portanto, o objetivo deste estudo foi avaliar o impacto da deficiência dos minerais (magnésio, selênio e zinco) no sistema de defesa antioxidante em mulheres obesas. Foi conduzido estudo transversal envolvendo mulheres que foram distribuídas em dois grupos: obesas com índice de massa corpórea $\geq 35 \text{ kg/m}^2$ ($n=63$) e mulheres eutróficas com índice de massa corpórea entre $18,5$ e $24,9 \text{ kg/m}^2$ ($n=77$). Foram conduzidas as determinações da glicose de jejum, hemoglobina glicada, insulina de jejum e lipídios séricos. O *Homeostasis Model Assessment Insulin Resistance* e o *Homeostasis Model Assessment - β* foram calculados. As análises de cortisol sérico, leptina plasmática, concentrações plasmáticas de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico, atividade das enzimas superóxido dismutase, glutathiona peroxidase e catalase nos eritrócitos foi realizada. A análise da ingestão de energia, macronutrientes, magnésio, zinco e selênio e a determinação das concentrações plasmáticas, eritrocitárias e urinárias destes minerais foram conduzidas. As mulheres obesas possuíam concentrações plasmáticas e eritrocitárias de magnésio, selênio e zinco reduzidas e valores de excreção urinária aumentados, quando comparadas ao grupo controle ($p < 0,05$). As participantes obesas apresentaram concentrações plasmáticas elevadas de TBARS e atividade reduzida da enzima superóxido dismutase nos eritrócitos. O estudo revelou associação positiva entre as concentrações eritrocitárias de zinco e selênio e a atividade das enzimas glutathiona peroxidase e superóxido dismutase eritrocitárias nas mulheres obesas ($p < 0,05$). Além disso, a análise de regressão identificou associação positiva significativa entre a insulina sérica e a enzima glutathiona peroxidase,

sendo esta dependente do selênio dietético ($p < 0,05$). As pacientes obesas apresentam deficiência em magnésio, selênio e zinco, o que parece prejudicar a capacidade do sistema de defesa antioxidante e, conseqüentemente, contribuir para acentuar desordens metabólicas importantes nessas pacientes, a exemplo do estresse oxidativo.

Palavras-chave: Obesidade. Magnésio. Selênio. Zinco. Antioxidantes. Estresse Oxidativo.

Introdução

A obesidade é uma pandemia que se associa à manifestação de diversas doenças, como diabetes *mellitus* tipo 2, doenças cardiovasculares e câncer. Estima-se que, em 2025, aproximadamente 2,3 bilhões de adultos estejam com sobrepeso, e mais de 700 milhões, com obesidade. No Brasil, atualmente, mais de 50% da população apresentam excesso de peso corporal (ABESO, 2019).

O excesso de tecido adiposo, em particular na região abdominal, induz o desenvolvimento de um estado pró-inflamatório crônico, caracterizado pela secreção aumentada de adipocitocinas e de ácidos graxos livres circulantes, favorecendo o acúmulo ectópico de lipídios em indivíduos obesos. Tais alterações constituem a disfuncionalidade do tecido adiposo, que contribui para a manifestação de desordens metabólicas nessa doença, como o estresse oxidativo (BLÜHER, 2009; BRAY, 2018; FERNÁNDEZ-SÁNCHEZ et al., 2011; GOOSSENS, 2017).

Os mecanismos envolvidos na indução do estresse oxidativo na obesidade não estão completamente esclarecidos. Estudos sobre o tema mostram o envolvimento da inflamação crônica de baixo grau, de microRNAs e enzimas pró-oxidantes. De forma simultânea, redução na atividade de enzimas do sistema de defesa antioxidante endógeno e alterações observadas no metabolismo de vitaminas e minerais também contribuem para a indução do estresse oxidativo nessa doença (AMIRKHIZI et al., 2014; BAEZ-DUARTE et al., 2012; GUERRERO et al., 2015; MOHSENI et al., 2018; SARMIENTO et al., 2014; ZHOU et al., 2015).

Associado a isso, pesquisas têm identificado deficiências nutricionais em indivíduos obesos, mais especificamente dos minerais magnésio, selênio e zinco. Estes nutrientes destacam-se por exercerem funções importantes no sistema de defesa contra espécies reativas, atuando como cofatores de enzimas antioxidantes ou auxiliando no funcionamento adequado desse sistema. Dessa forma, a deficiência nestes minerais parece favorecer alterações bioquímicas relevantes para a manifestação do estresse oxidativo nesses pacientes (CRUZ et al., 2014; FEITOSA et al., 2018; MARREIRO et al., 2017; MORAIS et al., 2017; MORAIS et al., 2017; OLIVEIRA et al., 2015).

A deficiência em magnésio, selênio e zinco também pode contribuir para o estresse oxidativo sistêmico de forma indireta, por meio de alterações metabólicas que aumentam a atividade de enzimas pró-oxidantes, a exemplo da hiperglicemia crônica, resistência à insulina, alterações no perfil lipídico e hiperleptinemia. Dessa forma, ocorre produção

excessiva de espécies reativas, favorecendo o dano oxidativo (CRUZ et al., 2014; MORAIS et al., 2017; OLIVEIRA et al., 2015).

Nessa perspectiva, considerando a existência de deficiência em micronutrientes em indivíduos obesos, bem como da importância destes na proteção ou controle de repercussões metabólicas e clínicas associadas ao excesso de peso, torna-se necessárias a obtenção de respostas científicas mais consistentes sobre o papel desses nutrientes na proteção contra o estresse oxidativo na obesidade. Assim, o objetivo deste estudo foi avaliar o impacto da deficiência em magnésio, selênio e zinco no sistema de defesa antioxidante em mulheres obesas.

Métodos

Estudo transversal envolvendo mulheres, com idade entre 20 e 50 anos, que foram distribuídas em dois grupos: mulheres com índice de massa corpórea (IMC) ≥ 35 kg/m² (obesas n=63) e mulheres com IMC entre 18,5 e 24,9 kg/m²; (eutróficas n=77). A amostra foi definida por meio de amostragem por conveniência, sendo as participantes recrutadas a partir da demanda espontânea de ambulatórios clínicos localizados no centro da cidade de Teresina – PI, com idade e situação sócioeconômica semelhante entre os grupos.

O ambulatório clínico, local de atendimento da população-fonte das participantes do estudo, realiza atendimentos de diversas especialidades clínicas, sendo frequentados por indivíduos de ambos os sexos com idades variadas, com destaque na área de endocrinologia, o que torna elevada a frequência de atendimentos à pacientes obesos. Portanto, as mulheres constantes na amostra do presente estudo foram selecionadas a partir dessa população.

As participantes do estudo foram selecionadas por meio de entrevista, considerando os seguintes critérios de exclusão: gestante ou lactante; pós-menopausa; participando de outro estudo clínico; presença de comorbidades como diabetes *mellitus*, doença renal crônica, câncer e infecções recentes. Foram também excluídas mulheres em uso de suplemento vitamínico-mineral ou medicamentos que pudessem interferir no estado nutricional relativo aos minerais; fumantes e que apresentassem ingestão de álcool de forma crônica, sendo tais informações autorreferidas pelas participantes.

O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal do Piauí, sob número de parecer 2.014.100 (BRASIL, 2012). As participantes assinaram um termo de consentimento livre e esclarecido do estudo.

Avaliação do Estado Nutricional

O peso corporal e estatura das participantes foram medidos segundo protocolo proposto pelo Ministério da Saúde (BRASIL, 2004). O IMC foi calculado a partir do peso da participante dividido por sua estatura elevada ao quadrado, e utilizaram-se as recomendações da Organização Mundial de Saúde para classificação do estado nutricional (WHO, 2000).

Coleta do Material Biológico

Amostras de 18,5 mL de sangue venoso foram coletadas no período da manhã, entre 7 e 9 horas, estando as participantes em jejum mínimo de 12 horas. Foram fornecidos frascos desmineralizados para a coleta de urina de 24h, que foram pesados antes e após a coleta em balança semianalítica (Marte, modelo AS 5000, São Paulo, SP, Brasil) para a determinação do volume urinário a partir da densidade. Em seguida, foram retirados 8 mL de urina e distribuídos em quatro microtubos de polipropileno, que foram armazenados em *freezer* a -20°C para posterior análise dos minerais zinco e selênio. O volume restante foi acidificado com ácido clorídrico a 3 mol/L e homogeneizado para evitar a precipitação do magnésio e para melhor preservação do mineral na urina (ELIN, 1987). Posteriormente, foram retirados 4 mL de urina e distribuídos em dois microtubos, os quais foram conservados em *freezer* a -20°C .

Determinação da Atividade de Enzimas Antioxidantes

A atividade das enzimas glutatona peroxidase e superóxido dismutase nos eritrócitos foi avaliada em analisador bioquímico automático (modelo *Labmax 240*, Lagoa Santa, Mg, Brasil); utilizando-se kit *Ransel 505* (Laboratório *Randox*, Crumlin, Reino Unido), de acordo com metodologia proposta por Paglia e Valentine (1967) e kit *Ransod* (Laboratório *Randox*, Crumlin, Reino Unido), respectivamente, conforme metodologia recomendada pelo fabricante. A concentração de hemoglobina do hemolisado foi determinada para expressar a atividade enzimática em unidades de enzima por grama de hemoglobina (U/g Hg). Foram usados os valores de referência propostos pela *Randox* para atividade da glutatona peroxidase (27,5 a 73,6 U/gHg) e superóxido dismutase (1.102 a 1.601 U/gHg).

A atividade da catalase foi determinada em espectrofotômetro *Bel Photonics* UV/Vis (modelo SF200DM, Osasco, SP, Brasil) a 240 nm, segundo método proposto por Aebi (1984), que se baseia no decaimento da absorbância decorrente da redução de H₂O₂ a água, pela catalase presente na amostra, medido durante tempo de 30 segundos. Para o meio de reação, utilizou-se a solução de peróxido de hidrogênio (30 mM) em tampão fosfato de sódio e potássio 50 mM (pH 7,0). Em uma cubeta de quartzo, foram adicionados 1 mL de solução de H₂O₂ e 2 mL da diluição da amostra. A atividade enzimática foi expressa em mmol de H₂O₂ consumido por minuto e grama por grama de hemoglobina (mmol.min⁻¹.g⁻¹/g Hb).

Determinação das Concentrações Plasmáticas de Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico

A determinação das concentrações plasmáticas das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) foi realizada segundo método proposto por Ohkawa; Ohishi; Yagi (1979). A curva de calibração foi preparada utilizando as concentrações de 0,5 a 8,0 nmol/mL do reagente padrão 1,1,3,3-tetraetoxiproprano (Sigma-Aldrich®). A absorbância foi medida em comprimento de onda de 532nm, utilizando espectrofotômetro *Bel Photonics* UV/Vis (modelo 1102, Osasco, SP, Brasil).

Determinação de Parâmetros do Controle Glicêmico

As determinações das concentrações séricas de glicose de jejum foram realizadas por método enzimático colorimétrico, utilizando-se os kits *Labtest*. Foram considerados normais, os valores de glicose de jejum entre 75 e 99 mg/dL, segundo os critérios definidos pela *American Diabetes Association* (ADA, 2017). As concentrações séricas de insulina foram analisadas utilizando o método de quimioluminescência, sendo considerados os valores de referência entre 6 e 27 µU/mL. As concentrações plasmáticas de hemoglobina glicada foram conduzidas pelo método de cromatografia de troca iônica, sendo os valores inferiores a 5,7% considerados normais, segundo a *American Diabetes Association* (ADA, 2017).

A fórmula: (insulina [µU/mL] x glicose [mmol/L])/22,5 foi utilizada para o cálculo dos valores de HOMA-IR. O índice HOMA-β foi calculado usando o programa *HOMA Calculator*, versão 2.2.3 (*HOMA Calculator*, 2017). Valores de HOMA-IR acima de 2,71 ou do HOMA-

β acima de 1,8 indicaram resistência à insulina (MATTHEWS et al., 1985; WALLACE et al., 2004).

Determinação do Perfil Lipídico

As concentrações séricas de colesterol total, LDL-colesterol, HDL-colesterol, VLDL e triglicérides foram conduzidas segundo método enzimático colorimétrico, em analisador bioquímico automático Cobas Integra (*Roche Diagnostics*, Brasil), utilizando kits *Roche*. A fração LDL-colesterol foi calculada de acordo com a fórmula de Friedwald et al. (1972): $LDL-c = CT - HDL-c - TG/5$, sendo válida para valores de triglicérides até 400 mg/dL. A fração não-HDL-colesterol foi calculada por meio da diferença entre os valores de colesterol total e HDL-colesterol. Os valores para lipídios séricos definidos na Atualização da Diretriz Brasileira de Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose – 2017 foram utilizados como padrão de referência (FALUDI et al., 2017).

Determinação das Concentrações Séricas de Cortisol e Leptina

A avaliação da concentração de cortisol sérico foi realizada pelo método de eletroquimioluminescência, utilizando como padrão de referência valores entre 6,23 – 18,01 $\mu\text{g/dL}$ no turno da manhã (NIEMAN et al., 2008). A determinação da concentração plasmática de leptina foi conduzida segundo método de radioimunoensaio, utilizando kit Elisa.

Análise da Ingestão Dietética do Magnésio, Selênio e Zinco

O registro alimentar de três dias foi o método utilizado para análise da ingestão dietética de energia, macronutrientes e minerais, que foi calculada por meio do programa *Nutwin*, versão 1.5 (UNIFESP, São Paulo, SP, Brasil) (ANÇÃO et al., 2002). Os valores dos requerimentos médios estimados (EAR) inclusos na Ingestão dietética de referência (DRIs) foram utilizados como padrão de referência para verificar adequação na ingestão destes nutrientes (IOM, 1997, 2000, 2001, 2005).

Os valores de referência utilizados para os minerais foram: 255 mg de magnésio/dia para mulheres com idade de 19 a 30 anos e 265 mg de magnésio/dia para aquelas com mais de 30 anos (IOM, 1997); 6,8 mg de zinco/dia (IOM, 2001) e 45 μg de selênio/dia (IOM, 2000).

Os valores da ingestão de energia, macronutrientes e minerais foram inseridos na plataforma online *Multiple Source Method* (MSM), versão 1.0.1, para ajustes da variabilidade intrapessoal e interpessoal, corrigida por técnicas de modelagem estatística, bem como para estimativa do consumo alimentar habitual desses nutrientes, por meio de análise de regressão logística (HAUBROCK et al., 2011; LAUREANO et al., 2016; MSM, 2011; SOUVEREIN et al., 2011). Este programa pode ser acessado por meio do *website* MSM (<https://nugo.dife.de/msm/>).

Os valores dietéticos de macronutrientes e minerais também foram ajustados em relação à energia por meio do método residual, evitando distorções geradas por diferenças no consumo energético. Após verificar a normalidade da distribuição dos dados, os valores de ingestão foram ajustados em relação à energia pelo cálculo do nutriente (FISBERG et al., 2005; JAIME et al., 2003; WILLETT; STAMPFER, 1986).

Avaliação dos Parâmetros Bioquímicos do Magnésio, Selênio e Zinco

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

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

As análises das concentrações plasmáticas, eritrocitárias e urinárias foram realizadas no Laboratório de Espectrometria de Emissão Atômica - Embrapa (Centro Nacional de Pesquisa de Milho e Sorgo, Sete Lagoas – MG. A análise elementar dos minerais foi realizada em espectrômetro de plasma indutivamente acoplado - Espectrometria de Emissão Óptica com uma configuração de vista axial e um nebulizador V-Groove (720 ICP/OES, Varian Inc., Califórnia, Estados Unidos).

Os valores de referência adotados foram: 0,75 a 1,05 mmol/L para magnésio plasmático (TOPF; MURRAY, 2003), 1,65 a 2,65 mmol/L para magnésio eritrocitário, 3,00 a 5,00 mmol/dia para magnésio urinário (TIETZ, 1995), 75 a 110 µg/dL para zinco

plasmático (GIBSON, 2005), 40 a 44 $\mu\text{g/gHb}$ para zinco eritrocitário (GUTHRIE; PICCIANO, 1994), 300-600 $\mu\text{g}/24$ horas para zinco urinário (GIBSON, 2005), 80 a 95 $\mu\text{g/L}$ para selênio plasmático (para maximização da atividade da glutathiona peroxidase plasmática) (THOMSON, 2004) e 0,18 a 0,55 $\mu\text{g/gHb}$ para selênio eritrocitário (VITOUX; ARNAUD; CHAPPUIS, 1999).

Análise Estatística

Tratamento a dados faltantes

Considerando o número de dados ausentes no banco de dados, sendo 4,8% no grupo controle e 15,8% no grupo de obesas, optou-se por realizar um processo de imputação de dados, com o objetivo de “completar” o banco e possibilitar a análise com todos os indivíduos do estudo. O método imputação única foi utilizado para o grupo de variáveis com dados ausentes menores que 15%, e a imputação múltipla, quando houve mais de 15% de perda de dados, segundo Harrel Jr. (2001).

As imputações única e múltipla foram realizadas pelo método *Predictive Mean Matching* (PMM), o qual é indicado para variáveis quantitativas. Para imputação única por meio deste método, foram conduzidas três etapas (LITTLE, 1988): (1) estimação de um modelo de regressão, sendo que a variável de interesse (a imputar) foi a variável resposta e as variáveis recolhidas restantes foram as explicativas; (2) estimação do valor da variável de interesse para os sujeitos com o dado omisso; (3) emparelhamento do valor da variável de interesse predito, para os sujeitos com o dado omisso, com o valor ajustado mais próximo (feito a partir do cálculo da distância euclidiana). No caso em que houve mais de um valor ajustado com distância igual à distância mínima encontrada, foi escolhido aleatoriamente pelo programa o valor a imputar, dentre os que sofreram empate.

A imputação múltipla por PMM foi baseada nos mesmos princípios que a anteriormente descrita, exceto que em vez de se gerar apenas um valor, foram gerados vários. Depois de realizadas as imputações múltiplas, as estimativas gerais para os valores foram obtidas pela média dos valores imputados ($m=5$). Como os métodos de imputação usados neste estudo são baseados em análise de regressão linear, foi necessário definir variáveis que seriam usadas para imputação. Sob a suposição de que os dados ausentes têm mecanismo de não-resposta MAR (Faltantes aleatórios - *Missing at Random*), variáveis explicativas que tinham uma relação mais próxima com as variáveis respostas foram incluídas nos modelos.

Para realizar as imputações únicas e as imputações múltiplas, foram utilizadas a função criada por Andreozzi (2013) e o pacote *Multivariate Imputation by Chained Equations* (MICE), respectivamente. Ambos os processos foram realizados no programa R (R Development Core Team, 2019).

Análise dos Dados

A pressuposição de normalidade das variáveis foi avaliada por meio do teste de *Kolmogorov-Sminov* e teste *Shapiro-Wilk*. A comparação entre os grupos foi conduzida utilizando os testes *t de Student* ou *Mann-Whitney*, dependendo da normalidade dos dados. A análise de correlação entre as variáveis foi realizada por meio dos coeficientes de *Pearson* ou *Spearman*. A análise de regressão múltipla foi utilizada para identificação dos fatores associados ao estresse oxidativo. Os testes foram considerados significativos quando o valor de $p < 0,05$.

Resultados

A tabela 01 mostra os valores médios e desvios padrões da idade e dos parâmetros antropométricos utilizados na avaliação do estado nutricional do grupo controle e mulheres com obesidade. Houve diferença significativa entre os grupos para os parâmetros antropométricos avaliados.

Tabela 01 - Valores médios e desvios padrões da idade e dos parâmetros antropométricos das participantes do estudo. Teresina-PI, 2019.

Parâmetros	Mulheres	Mulheres	Valor de <i>p</i>
	Eutróficas (n=77)	com Obesidade (n=63)	
	Média ± DP	Média ± DP	
Idade (anos)	35,22 ± 7,95	34,30 ± 8,29	0,486
Peso corporal (kg)	56,19 ± 5,59	107,13 ± 15,78	< 0,001*
Estatura (m)	1,58 ± 0,06	1,61 ± 0,06	0,027*
IMC (kg/m ²)	22,39 ± 1,64	41,50 ± 5,94	< 0,001*

*Valores significativamente diferentes entre grupo controle e obesas, teste *t* de Student ou teste Mann-Whitney ($p < 0,05$). IMC = índice de massa corpórea; DP = desvio padrão.

Em relação ao consumo alimentar, verificou-se que os valores médios de ingestão de energia e selênio dietético foram superiores nas dietas das mulheres obesas em relação ao grupo controle (tabela 02).

Tabela 02 - Valores médios e desvios padrões da ingestão dietética de energia, macronutrientes, magnésio, selênio e zinco das participantes do estudo. Teresina-PI, 2019.

Parâmetros	Mulheres	Mulheres	Valor de <i>p</i>
	Eutróficas (n=77)	com Obesidade (n=63)	
	Média ± DP	Média ± DP	
Energia (kcal)	1632,88 ± 373,23	1744,21 ± 284,05	0,025*
Carboidrato (%)	50,75 ± 7,28	50,17 ± 4,96	0,504
Proteína (%)	20,14 ± 3,50	21,03 ± 3,32	0,162
Lipídio (%)	29,12 ± 5,23	28,80 ± 2,97	0,650
Magnésio (mg/dia)	177,34 ± 32,09	179,93 ± 25,64	0,283
Selênio (µg/dia)	73,54 ± 28,39	82,15 ± 19,49	0,025*
Zinco (mg/dia)	11,31 ± 3,15	12,28 ± 2,83	0,062

*Valores significativamente diferentes entre grupo controle e obesas, teste *t* de Student ou teste Mann-Whitney ($p < 0,05$). DP = desvio padrão.

A tabela 03 mostra que as mulheres obesas apresentaram concentrações plasmáticas e eritrocitárias reduzidas de magnésio, selênio e zinco, e valores urinários elevados desses minerais em relação ao grupo controle.

Tabela 03 - Valores médios e desvios padrões dos parâmetros bioquímicos do magnésio, zinco e selênio das participantes do estudo. Teresina-PI, 2019.

Parâmetros	Mulheres	Mulheres	Valor de <i>p</i>
	Eutróficas (n=77) Média ± DP	com Obesidade (n=63) Média ± DP	
Magnésio plasmático (mmol/L)	0,91 ± 0,11	0,60 ± 0,10	< 0,001
Magnésio eritrocitário (mmol/L)	2,30 ± 0,24	1,57 ± 0,13	< 0,001
Magnésio urinário (mmol/dia)	3,45 ± 1,67	5,94 ± 1,86	< 0,001
Selênio plasmático (µg/L)	78,89 ± 9,18	58,21 ± 4,67	< 0,001
Selênio eritrocitário (µg/gHb)	0,38 ± 0,08	0,25 ± 0,03	< 0,001
Selênio urinário (µg/dia)	42,53 ± 4,61	67,7 ± 7,32	< 0,001
Zinco plasmático (µg/dL)	89,41 ± 12,66	68,41 ± 5,37	< 0,001
Zinco eritrocitário (µg/gHb)	42,63 ± 3,72	39,21 ± 5,24	< 0,001
Zinco urinário (µg/dia)	192,37 ± 92,87	353,12 ± 187,78	< 0,001

Valores significativamente diferentes entre grupo controle e obesas, teste t de *Student* ou teste *Mann-Whitney* ($p < 0,05$). DP = desvio padrão.

A tabela 04 mostra os valores médios de marcadores metabólicos e atividade de enzimas do sistema de defesa antioxidante avaliados nas participantes do estudo. As mulheres obesas apresentaram concentrações elevadas de triglicédeos, VLDL, fração não HDL-colesterol, leptina e TBARS, bem como valores reduzidos de HDL-colesterol e atividade da superóxido dismutase, em relação às participantes eutróficas.

Tabela 04 - Valores médios e desvios padrões de marcadores metabólicos e atividade de enzimas do sistema de defesa antioxidante das participantes do estudo. Teresina-PI, 2019.

Parâmetros	Mulheres	Mulheres	Valor de <i>p</i>
	Eutróficas (n=77)	com Obesidade (n=63)	
	Média ± DP	Média ± DP	
Glicose de jejum (mg/dL)	80,82 ± 9,40	84,63 ± 16,08	0,286
Insulina de jejum (µU/mL)	10,69 ± 3,45	10,94 ± 4,58	0,829
HOMA-IR	2,15 ± 0,81	2,39 ± 1,67	0,928
HOMA-β	1,34 ± 0,62	1,40 ± 0,61	0,897
HbA1c	5,04 ± 0,53	5,21 ± 0,70	0,367
Colesterol total (mg/dL)	191,12 ± 28,50	195,63 ± 25,47	0,330
Triglicérides (mg/dL)	116,10 ± 35,17	141,79 ± 47,88	0,002*
VLDL (mg/dL)	23,22 ± 7,03	28,40 ± 9,59	0,002*
LDL-c (mg/dL)	112,21 ± 26,29	118,54 ± 22,85	0,135
HDL-c (mg/dL)	55,69 ± 10,93	48,70 ± 11,25	0,001*
Não-HDL (mg/dL)	135,43 ± 29,43	146,94 ± 24,87	0,015*
Cortisol (µg/dL)	12,87 ± 5,42	12,49 ± 5,66	0,980
Leptina (ng/mL)	20,12 ± 11,86	115,12 ± 64,39	< 0,001*
TBARS (nmol/mL)	1,32 ± 0,49	2,08 ± 0,48	< 0,001
SOD (U/gHb)	2926,33 ± 601,57	2394,15 ± 523,28	< 0,001*
GPx (U/gHb)	43,01 ± 10,91	43,64 ± 13,08	0,953
CAT (mmol.min ⁻¹ .g ⁻¹ /g Hb)	2,48 ± 1,52	2,36 ± 1,31	0,634

*Valores significativamente diferentes entre grupo controle e obesas, teste *t de Student* ou teste *Mann-Whitney* ($p < 0,05$). HbA1c = hemoglobina glicada; HOMA-IR = *Homeostasis Model Assessment Insulin Resistance*; HOMA-β = *Homeostasis Model Assessment β*; CT= colesterol total; VLDL = lipoproteína de muito baixa densidade; HDL = lipoproteína de alta densidade; LDL = lipoproteína de baixa densidade; não-HDL = colesterol não HDL; TBARS = substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico; GPx = glutationa peroxidase; SOD = superóxido dismutase; CAT = catalase; DP = desvio padrão.

A tabela 05 apresenta a análise de correlação linear entre as concentrações de magnésio, selênio e zinco, e marcadores do estresse oxidativo nas mulheres obesas. Verifica-se que houve correlação positiva entre as concentrações de selênio e zinco no eritrócito e a atividade das enzimas antioxidantes glutaciona peroxidase e superóxido dismutase eritrocitárias nas mulheres obesas ($p < 0,05$).

Tabela 05 – Análise de correlação linear simples entre as concentrações de magnésio, selênio e zinco, e marcadores de estresse oxidativo nas mulheres com obesidade. Teresina-PI, 2019.

Parâmetros	SOD (U/gHb)		GPX (U/gHb)		CAT (mmol.min ⁻¹ .g ⁻¹ /g Hb)		TBARS (nmol/mL)	
	r	p	r	P	r	p	r	p
	Mg dietético	0,144	0,250	-0,177	0,166	0,161	0,206	-0,163
Mg plasmático	0,054	0,673	-0,225	0,075	-0,126	0,326	-0,044	0,730
Mg eritrocitário	0,237	0,062	0,191	0,134	-0,204	0,109	0,048	0,706
Mg urinário	-0,018	0,887	0,047	0,712	0,025	0,846	0,023	0,857
Se dietético	0,149	0,244	0,043	0,740	0,079	0,541	0,005	0,970
Se plasmático	-0,105	0,411	-0,145	0,258	-0,136	0,287	0,137	0,285
Se eritrocitário	0,448	<0,001*	0,724	<0,001*	0,240	0,058	-0,104	0,416
Se urinário	0,087	0,500	0,271	0,031*	0,027	0,834	-0,458	<0,001*
Zn dietético	-0,050	0,698	0,178	0,162	0,031	0,809	0,092	0,475
Zn plasmático	0,033	0,796	0,201	0,113	-0,033	0,145	0,258	0,184
Zn eritrocitário	0,272	0,031*	0,571	<0,001*	0,230	0,070	-0,145	0,258
Zn urinário	0,259	0,041*	0,100	0,434	-0,193	0,130	-0,135	0,291

* Coeficiente de correlação linear de *Pearson* ou *Spearman* ($p < 0,05$). Mg = magnésio, Se = selênio; Zn = zinco; TBARS = substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico; GPx = glutaciona peroxidase; SOD = superóxido dismutase; CAT = catalase.

A tabela 06 mostra a análise de correlação linear entre as concentrações de magnésio, selênio e zinco, e marcadores de estresse oxidativo nas mulheres eutróficas. Verifica-se que houve correlação positiva entre o zinco eritrocitário e atividade da superóxido dismutase, e correlação negativa entre o selênio urinário e atividade desta enzima antioxidante. Nas mulheres eutróficas, o selênio plasmático e o zinco eritrocitário se correlacionaram positivamente com a atividade da glutaciona peroxidase eritrocitária, e foi verificada correlação negativa entre o zinco urinário e a enzima glutaciona peroxidase.

Observa-se ainda que o zinco eritrocitário se correlacionou positivamente com a atividade da catalase, bem como que o magnésio e o selênio urinário se correlacionaram inversamente com a atividade desta enzima antioxidante. Além disso, houve correlação positiva entre as concentrações urinárias de magnésio e zinco e os valores de TBARS.

Tabela 06 – Análise de correlação linear simples entre as concentrações de magnésio, selênio e zinco, e marcadores de estresse oxidativo nas mulheres eutróficas. Teresina-PI, 2019.

Parâmetros	SOD (U/gHb)		GPX (U/gHb)		CAT (mmol.min ⁻¹ .g ⁻¹ /gHb)		TBARS (nmol/mL)	
	r	p	r	P	r	p	r	p
Mg dietético	0,071	0,538	-0,070	0,544	0,214	0,061	0,138	0,230
Mg plasmático	-0,292	0,010*	0,036	0,758	-0,286	0,012*	-0,097	0,402
Mg eritrocitário	0,183	0,111	-0,201	0,080	0,079	0,495	0,037	0,746
Mg urinário	0,066	0,668	-0,148	0,200	-0,249	0,029*	0,291	0,010*
Se dietético	0,138	0,232	0,005	0,964	0,222	0,052	-0,154	0,182
Se plasmático	0,139	0,227	0,295	0,009*	0,117	0,313	-0,137	0,236
Se eritrocitário	0,161	0,162	0,221	0,054	0,163	0,157	-0,162	0,161
Se urinário	-0,305	0,007*	0,090	0,439	-0,240	0,035*	-0,205	0,074
Zn dietético	0,084	0,469	-0,003	0,977	-0,209	0,068	0,025	0,831
Zn plasmático	0,018	0,874	0,033	0,777	-0,237	0,038*	-0,048	0,680
Zn eritrocitário	0,319	0,005*	0,273	0,016*	0,230	0,044*	-0,091	0,432
Zn urinário	0,066	0,569	-0,298	0,009*	-0,193	-0,179	0,118	0,013*

* Coeficiente de correlação linear de *Pearson* ou *Spearman* ($p < 0,05$). Mg = magnésio, Se = selênio; Zn = zinco; TBARS = substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico; GPx = glutatona peroxidase; SOD = superóxido dismutase; CAT = catalase.

Quanto às análises de correlação conduzidas entre o estado nutricional relativo aos minerais e os parâmetros do controle glicêmico nas mulheres obesas avaliadas, observou-se correlação positiva significativa entre insulina de jejum e magnésio urinário ($r = 0,316$; $p = 0,011$), zinco urinário ($r = 0,304$; $p = 0,015$) e selênio dietético ($r = 0,295$; $p = 0,019$). Além disso, verificou-se correlação positiva entre HOMA-IR e as concentrações urinárias de magnésio ($r = 0,280$; $p = 0,027$) e zinco ($r = 0,290$; $p = 0,021$), e entre HOMA- β e magnésio ($r = 0,310$; $p = 0,013$) e zinco urinários ($r = 0,308$; $p = 0,014$). No grupo controle, o zinco eritrocitário se correlacionou positivamente com insulina de jejum ($r = 0,041$; $p = 0,014$) e HOMA- β ($r = 0,229$; $p = 0,045$).

Sobre a análise de correlação conduzida entre o estado nutricional em minerais e o perfil lipídico nas mulheres obesas, observou-se correlação inversa entre selênio plasmático e colesterol total ($r = -0,272$; $p = 0,031$) e positiva entre zinco urinário e colesterol

total ($r = 0,299$; $p = 0,017$). No grupo controle, o magnésio dietético se correlacionou inversamente com LDL - colesterol ($r = -0,295$; $p = 0,009$) e não HDL ($r = -0,238$; $p = 0,037$).

Quanto à análise de correlação entre os marcadores de distúrbios metabólicos e o estresse oxidativo nas mulheres obesas, identificou-se correlação positiva entre colesterol total ($r = 0,273$; $p = 0,030$), LDL-colesterol ($r = 0,273$; $p = 0,030$) e a enzima glutathione peroxidase. Além disso, o aumento na insulina de jejum se correlacionou positivamente com a atividade da superóxido dismutase ($r = 0,259$; $p = 0,040$).

A tabela 07 mostra a análise de regressão linear múltipla para as variáveis respostas glutathione peroxidase, superóxido dismutase, catalase e TBARS segundo minerais e perfil glicêmico. Identificou-se uma associação positiva significativa entre selênio eritrocitário e insulina e a enzima glutathione peroxidase, sendo a relação entre insulina e glutathione peroxidase dependente do selênio dietético, tais resultados indicam que 59,14% da variação na glutathione peroxidase é explicada pelas variáveis independentes do modelo.

Tabela 07 – Modelo final da regressão linear múltipla para as variáveis respostas glutationala peroxidase, superóxido dismutase, substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico e modelo Gama para a variável resposta catalase segundo minerais e perfil glicêmico.

Variáveis	GPX			SOD			TBARS			CAT		
	Coeficientes			Coeficientes			Coeficientes			Coeficientes		
	B	Erro padrão	<i>p</i>	B	Erro padrão	<i>p</i>	B	Erro padrão	<i>p</i>	B	Erro padrão	<i>p</i>
(Constante)	-37.18	9.69	<0,001	-349.38	760.04	0.647	1.79	0.24	<0,001	2.07	1.99	0.302
Mg eritrocitário	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-3.06	1.11	0.008
Se dieta	-0.09	0.05	0.088	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Se eritrocitário	323.49	37.79	<0,001	8058.09	2135.66	<0,001	-	-	-	22.92	5.67	<0,001
Se urina	-	-	-	-	-	-	-0.012	0.003	<0,001	-	-	-
Zn urina	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-0.002	0.001	0.004
Insulina de jejum	0.52	0.22	0.022	41.68	15.33	0.009	-	-	-	-	-	-
Glicemia de jejum	-	-	-	-23.12	6.00	<0,001	-0.004	0.001	0.009	-0.04	0.01	0.005
HBA1C	-	-	-	425.71	136.19	0.003	-	-	-	0.68	0.30	0.029
Valor de <i>p</i>		<0,001			<0,001			<0,001			-	
Valor de <i>p</i> da normalidade dos resíduos		0.069			0.381			0.208			0.786	
R²		59.14%			38.29%			27.77%			30,58%*	

*Pseudo-R². Mg: magnésio, Se: selênio; Zn: zinco; TBARS = substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico; GPx = glutationala peroxidase; SOD = superóxido dismutase; CAT= catalase; HBA1C = hemoglobina glicada.

Discussão

Neste estudo, foram avaliados biomarcadores do magnésio, selênio e zinco, bem como foi investigada a existência de associação entre estes minerais e parâmetros do sistema de defesa antioxidante nas participantes da pesquisa. Sobre os micronutrientes estudados, verificou-se a presença de hipomagnesemia, hiposelenemia e hipozincemia nas mulheres obesas, bem como foram evidenciadas concentrações reduzidas de tais minerais nos eritrócitos dessas pacientes, sendo estes resultados semelhantes aos observados na literatura (BESERRA et al., 2019; FEITOSA et al., 2018; MORAIS, et al., 2017).

A deficiência em magnésio verificada nas mulheres obesas pode ser justificada pelo teor reduzido desse mineral na dieta, conforme identificado nos resultados do presente estudo, sendo que a excreção urinária elevada desses nutrientes, identificada nas pacientes com obesidade, também pode ter contribuído para reduzir suas concentrações nos compartimentos sanguíneos avaliados.

Sobre a excreção urinária de magnésio, tem sido apontado na literatura que a hiperglicemia e hiperinsulinemia reduzem a reabsorção renal de magnésio, promovendo hipermagnesúria (GUERRERO-ROMERO et al., 2016; McNAIR et al., 2012). Este fato pôde ser verificado neste estudo pela correlação positiva significativa verificada entre os parâmetros do controle glicêmico (insulina de jejum, HOMA-IR, HOMA-beta) e o magnésio urinário, o que demonstra a influência do descontrole glicêmico sobre a hipermagnesúria identificada nas mulheres obesas.

O descontrole glicêmico parece ainda ter contribuído para o aumento na excreção urinária do mineral zinco, favorecendo hipozincemia nas mulheres obesas, considerando a existência de correlação positiva significativa entre parâmetros do controle glicêmico (insulina de jejum, HOMA-IR, HOMA-beta) e as concentrações urinárias do mineral. Nesse sentido, pesquisas mostram que a glicosúria resultante da intolerância à glicose influencia no transporte ativo desse micronutriente nas células tubulares renais, resultando em aumento do zinco urinário (BANDEIRA et al., 2017; FREITAS et al., 2017).

Quanto às concentrações plasmáticas e eritrocitárias reduzidas de selênio nas mulheres obesas, vale mencionar que a inflamação crônica de baixo grau associada à obesidade pode prejudicar a expressão da selenoproteína P1, induzindo aumento dos metabólitos de selênio no organismo, e consequentemente, favorecendo a

excreção urinária desse mineral (RENKO et al., 2009; ZHANG; CHEN, 2011), fato verificado nas pacientes avaliadas nesse estudo.

Neste estudo, a determinação de marcadores da defesa antioxidante revelou redução na atividade eritrocitária da enzima superóxido dismutase nas mulheres obesas, em comparação ao grupo controle. Além disso, verificou-se aumento nas concentrações de TBARS nas mulheres obesas, reforçando a presença do estresse oxidativo. Esse resultado evidencia o comprometimento da defesa antioxidante nessas pacientes, o que parece ter sido um fator contribuinte para o aumento na concentração do marcador de peroxidação lipídica avaliado, ratificando a presença do estresse oxidativo nessas pacientes obesas.

A deficiência nos minerais magnésio, selênio e zinco verificada nas mulheres obesas avaliadas sugere repercussão sobre o estresse oxidativo. Na perspectiva de um melhor entendimento sobre tais resultados, foram conduzidas análises de correlação entre os parâmetros do estado nutricional relativo aos minerais e o sistema de defesa antioxidante, sendo identificada correlação positiva entre as concentrações eritrocitárias de zinco e a atividade das enzimas antioxidantes superóxido dismutase e glutathione peroxidase.

De forma semelhante e confirmando este resultado, no grupo controle foi verificada a existência de correlação entre o aumento do zinco eritrocitário e atividade da superóxido dismutase, catalase e glutathione peroxidase, bem como entre o aumento do zinco urinário e redução na atividade da glutathione peroxidase. Assim, estes dados revelam a importância da concentração adequada desse micronutriente para a manutenção da defesa antioxidante. Sobre tais resultados, a literatura mostra que o zinco, além de ser componente estrutural da superóxido dismutase, parece regular a ativação do fator nuclear eritróide associado ao fator 2 (Nrf2), fator de transcrição que estimula a expressão de enzimas do sistema de defesa antioxidante, o que explica a influência deste nutriente sobre as enzimas antioxidantes avaliadas (OLECHNOWICZ et al., 2018).

O estudo revela ainda a existência de correlação entre a redução nas concentrações eritrocitárias de selênio e diminuição na atividade das enzimas antioxidantes superóxido dismutase e glutathione peroxidase nas mulheres obesas. Além disso, nas mulheres eutróficas, o aumento no teor de selênio na dieta se associou com a maior atividade da catalase, e as concentrações plasmáticas do mineral foram associadas positivamente com a atividade da glutathione peroxidase

eritrocitária. O estudo mostrou ainda que a excreção urinária aumentada de selênio se associou com a redução na atividade das enzimas catalase e superóxido dismutase. Tais achados se justificam pelo importante papel do selênio como centro ativo da enzima glutathione peroxidase, bem como pela possível influência deste nutriente sobre o substrato antioxidante Nrf2. Assim, a deficiência em selênio parece alterar tanto a expressão deste fator de transcrição quanto a atividade dessa importante enzima antioxidante, fato este confirmado nas associações identificadas no presente estudo (YANG et al., 2017).

As análises de correlação conduzidas no grupo de mulheres eutróficas mostraram ainda associação entre o aumento do magnésio urinário e a redução na atividade da catalase eritrocitária, reforçando o envolvimento desse nutriente em mecanismos da defesa antioxidante. Nesse sentido, dados na literatura revelam que a hipomagnesemia reduz a expressão de enzimas antioxidantes (BELIN; HE, 2007; BARBAGALLO; DOMINGUEZ, 2010).

Destaca-se ainda a existência de relação positiva entre as concentrações urinárias de magnésio e de zinco e os valores plasmáticos de TBARS nas pacientes eutróficas, revelando que o aumento na excreção destes minerais, contribui para a peroxidação lipídica. Tal resultado ratifica a participação da deficiência nesses micronutrientes sobre o aumento na produção de metabólitos oxidativo.

Nessa discussão, é oportuno mencionar que a deficiência nos micronutrientes magnésio, selênio e zinco parece ter contribuído também de forma indireta para o desenvolvimento do estresse oxidativo nas mulheres obesas avaliadas. Nesse sentido, verificou-se relação entre a redução de selênio no plasma com aumento do colesterol total. Além disso, o estudo também identificou associação positiva entre o zinco na urina e a hipercolesterolemia nas mulheres obesas. Dessa forma, sugere-se que a depleção destes minerais no organismo pode constituir fator favorável para o desenvolvimento da hiperlipidemia, condição contribuinte para geração de espécies reativas de oxigênio.

Outra associação importante, embora não observada entre as mulheres obesas avaliadas, trata da correlação inversa entre o magnésio dietético e as concentrações de LDL-colesterol e de colesterol não-HDL, no grupo controle. Este achado ratifica a importância da ingestão adequada desse nutriente para modular o perfil lipídico, corroborando dados já existentes na literatura (BUSSEROLLES et al.,

2003; BUSSIÈRE et al., 1995; GUERRERO-ROMERO et al., 2016; GUERRERO-ROMERO; RODRÍGUEZ-MORAN, 2013).

No presente estudo, a análise de regressão linear múltipla para as variáveis respostas glutatona peroxidase, superóxido dismutase, malondialdeído e catalase, segundo os minerais e perfil glicêmico, mostrou associação entre o aumento das concentrações séricas de insulina e atividade da enzima glutatona peroxidase, sendo que esta associação existiu somente na presença de selênio dietético. Tal resultado sugere que o selênio dietético influencia o controle da insulina sérica, o que pode ser explicado pelo papel desse mineral na síntese e secreção desse hormônio, consequentemente níveis séricos adequados de insulina parecem induzir a atividade da enzima glutatona peroxidase, favorecendo melhora na resposta antioxidante, reforçando o papel desse nutriente sobre os mecanismos de defesa antioxidante.

Algumas limitações dessa pesquisa podem ser elencadas, a exemplo do fato de que as mulheres participantes do estudo não serem oriundas da população geral e sim de ambulatórios clínicos. Outro aspecto refere-se ao viés de informação, pois os questionários foram autorrespondidos de forma não anônima, o que pode ter levado ao seu preenchimento não fidedigno pelos entrevistados, principalmente no que diz respeito ao consumo alimentar, fato já evidenciado na literatura em relação a população obesa.

A ausência da análise da expressão de marcadores moleculares, a exemplo do Nrf2 e da enzima nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato oxidase, de biomarcadores da inflamação e ainda de outros parâmetros do estresse oxidativo, como a concentração urinária de isoprostano, poderiam ter fundamentado uma melhor discussão dos resultados encontrados no estudo. No entanto, ressalta-se que este constitui o primeiro estudo a avaliar a associação entre biomarcadores dos minerais magnésio, selênio e zinco e o sistema de defesa antioxidante em obesos.

Conclusão

As mulheres obesas apresentam deficiência em magnésio, selênio e zinco, caracterizada por concentrações reduzidas desses minerais no plasma e eritrócitos e excreção urinária aumentada, o que parece prejudicar a capacidade do sistema de defesa antioxidante e, consequentemente, contribuir para acentuar desordens metabólicas importantes nessas pacientes, a exemplo do estresse oxidativo.

REFERÊNCIAS

- AEBI, H. Catalase *in vitro*. **Methods in Enzymology**, v. 105, p. 121-126, 1984.
- AMERICAN DIABETES ASSOCIATION (ADA). Standards of Medical Care in Diabetes. **Diabetes Care**, Alexandria, v. 35, n. 1, p. S11-S63, 2017.
- AMIRKHIZI, F.; SIASSI, F.; DJALALI, M.; SHAHRAKI, S. H. Impaired enzymatic antioxidant defense in erythrocytes of women with general and abdominal obesity. **Obesity Research & Clinical Practice**, v. 8, n.1, p. e26-34, 2014.
- ANÇÃO, M. S.; CUPPARI, L.; DRAINE, A. S.; SINGULEM, D. **Programa de apoio à nutrição Nutwin: versão 1.5**. São Paulo: Departamento de Informática em Saúde, SPDM, Unifesp/EPM, 2002. 1 CDROM.
- ANDREOZZI, V. L. R. **Function**, 2013. Disponível em: <aleskaandreoizzi.weebly.com/scripts-in-r.html>
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA PARA O ESTUDO DA OBESIDADE E SÍNDROME METABÓLICA. Mapa da Obesidade, 2019. Disponível em: <<http://www.abeso.org.br/atitude-saudavel/mapa-obesidade>>
- BAEZ-DUARTE, B. G.; ZAMORA-GINEZ, I.; MENDOZA-CARRERA, F.; RUIZ-VIVANCO, G.; TORRES-RASGADO, E.; GONZALEZ-MEJIA, M. E. et al. Serum levels of glutathione peroxidase 3 in overweight and obese subjects from central Mexico. **Archives of Medical Research**, v. 43, n. 7, p. 541-7, 2012.
- BANDEIRA, V. D. S.; PIRES, L. V.; HASHIMOTO, L. L.; ALENCAR, L. L.; ALMONDES, K. G. S.; LOTTENBERG, S. A. et al. Association of reduced zinc status with poor glycemic control in individuals with type 2 diabetes mellitus. **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology**, v. 44, n. 1, p. 132-136, 2017.
- BARAKAT, G. M.; NOUSTAFA, M. E.; BIKHASI, A. B. Effects of selenium and exendin-4 on glucagon-like peptide-1 receptor, IRS-1, and RAF-1 in the liver of diabetic rats. **Biochemical Genetics**, v. 50, n. 11-12, p. 922-35, 2012.
- BARBAGALLO, M.; DOMINGUEZ, L. J. Magnesium and aging. **Current Pharmaceutical Design**, v. 16, n. 7, p. 832-9, 2010.
- BELIN, R. J.; HE, K. Magnesium physiology and pathogenic mechanisms that contribute to the development of the metabolic syndrome. **Magnesium Research**, v.20, n.2, p.107-129, 2007.
- BESERRA, J. B.; MORAIS, J. B. S. ; SEVERO, J. S. ; CRUZ, K. J. C. ; OLIVEIRA, A. R. S. et al. No association between zinc and thyroid activity in obese women. **International Journal for Vitamin and Nutrition Research**, 2019. *In press*.
- BLÜHER, M. Adipose tissue dysfunction in obesity. **Experimental and Clinical Endocrinology & Diabetes**, v. 117, n. 6, p. 241-50, 2009.

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

BRAY, G. A.; HEISEL, W. E.; AFSHIN, A.; JENSEN, M. D.; DIETZ, W. H.; LONG, M. et al. The Science of Obesity Management: An Endocrine Society Scientific Statement. **Endocrine Reviews**, v.39, n. 1, p. 79–132, 2018.

BUSSEROLLES, J.; GUEUX, E.; ROCK, E.; MAZUR, A.; RAYSSIGUIER, Y. High fructose feeding of magnesium deficient rats is associated with increased plasma triglyceride concentration and increased oxidative stress. **Magnesium Research**, v. 16, n. 1, p. 7-12, 2003.

BUSSIÈRE, L.; MAZUR, A.; GUEUX, E.; NOWACKI, W.; RAYSSIGUIER, Y. Triglyceride-rich lipoproteins from magnesium-deficient rats are more susceptible to oxidation by cells and promote proliferation of cultured vascular smooth muscle cells. **Magnesium Research**, v. 8, n. 2, p. 151-7, 1995.

CAMPBELL, S. C.; ALDIBBIAT, A.; MARRIOTT, C. E.; LANDY, C.; ALI, T.; FERRIS, W. F. et al. Selenium stimulates pancreatic beta-cell gene expression and enhances islet function. **FEBS Letter**, v. 582, n. 15, p. 2333-7, 2008.

COMINETTI, C.; BORTOLI, M. C.; ABDALLA, D. S. P.; COZZOLINO, S. M. F. Considerations about oxidative stress, selenium and nutrigenetics. **Nutrire**, v. 36, n. 3, p. 131-53, 2011.

CRUZ, K. J. C.; OLIVEIRA, A. R.; PINTO, D. P.; MORAIS, J. B.; LIMA, F. S.; COLLI, C. et al. Influence of Magnesium on Insulin Resistance in Obese Women. **Biological Trace Element Research**, v. 160, n. 3, p. 305-310, 2014.

ELIN, R. J. Assessment of magnesium status. **Clinical Chemistry**, v. 33, n. 11, p. 1965-1970, 1987.

FALUDI, A. A.; IZAR, M. C. O.; SARAIVA, J. F. K.; CHACRA, A. P. M.; BIANCO, H. T.; AFIUNE NETO, A. et al. Atualização da diretriz brasileira de dislipidemias e prevenção da aterosclerose. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 109, n. 2, p. 1-76, 2017.

FEITOSA, M. M.; FONTENELLE, L. C.; MORAIS, J. B. S.; SEVERO, J. S.; FREITAS, T. E. C.; ARAÚJO, C. O. D. et al. Selenium Status and its Relation to Markers of Oxidative Stress in Obese Women. **Revista de Alimentação Humana**, 2017. *In press*.

FERNÁNDEZ-SÁNCHEZ, A.; MADRIGAL-SANTILLÁN, E.; BAUTISTA, M.; ESQUIVEL-SOTO, J.; MORALES-GONZÁLEZ, A.; ESQUIVEL-CHIRINO, C. et al. Inflammation, Oxidative Stress, and Obesity. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 12, n. 5, p. 3117–3132, 2011.

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

FREITAS, E. P.; CUNHA, A. T.; AQUINO, S. L.; PEDROSA, L. F.; LIMA, S. C. et al. Zinc Status Biomarkers and Cardiometabolic Risk Factors in Metabolic Syndrome: A Case Control Study. **Nutrients**, v. 22, n. 2, p. pii: E175, 2017.

FRIEDEWALD, W. T.; LEVY, R. I.; FREDRICKSON, D. S. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. **Clinical Chemistry**, v. 18, n. 6, p. 499-502, 1972.

GIBSON, R.S. **Assessment of chromium, copper and zinc status**. In: GIBSON, R.S. Principles of Nutritional Assessment, New York: Oxford University Press: cap.24, p.711-30, 2005.

GOOSSENS, G. H. The Metabolic Phenotype in Obesity: Fat Mass, Body Fat Distribution, and Adipose Tissue Function. **Obesity facts**, v. 10, n. 1, p. 207–215, 2017.

GUERRERO-ROMERO, F.; FLORES-GARCÍA, A.; SALDAÑA-GUERRERO, S.; SIMENTAL-MENDÍA, L. E.; RODRÍGUEZ-MORÁN, M. Obesity and hypomagnesemia. **European Journal of Internal Medicine**, v. 34, p. 29-33, 2016.

GUERRERO-ROMERO, F.; RODRÍGUEZ-MORÁN, M. Serum Magnesium in the Metabolically-Obese Normal-Weight and Healthy-Obese Subjects. **European Journal of Internal Medicine**, v. 24, n. 7, p. 639-43, 2013.

GUERRERO-ROMERO, F.; SIMENTAL-MENDÍA, L. E.; HERNÁNDEZ-RONQUILLO, G.; RODRIGUEZ-MORÁN, M. Oral magnesium supplementation improves glycaemic status in subjects with prediabetes and hypomagnesaemia: A double-blind placebo-controlled randomized trial. **Diabetes & Metabolism**, v. 41, n. 3, p. 202-7, 2015.

GUTHRIE, H. A.; PICCIANO, M. F. **Micronutrient minerals**. In: Guthrie. HA, Picciano MF eds. Human Nutrition, p. 351-7, 1994.

HARRELL Jr, F. E. Regression modeling strategies: with applications to linear models, logistic regression and survival analysis. **Springer** – Verlag, New York, 2001.

HARRINGTON, J.M.; YOUNG, D.J.; ESSADER, A.S.; SUMNER, S.J.; LEVINE, K.E. Analysis of human serum and whole blood for mineral content by ICP-MS and ICP-OES: development of a mineralomics method. **Biological Trace Element Research**, v. 160, n. 1, p. 132-42, 2014.

HAUBROCK, J.; NÖTHLINGS, U.; VOLATIER, J. L.; DEKKERS, A.; OCKÉ, M. et al. Estimating usual food intake distributions by using the multiple source method in the EPIC-Potsdam Calibration Study. **The Journal of Nutrition**, v. 141, n. 5, p. 914-920, 2011.

INSTITUTE OF MEDICINE. FOOD AND NUTRITION BOARD. **Dietary Reference Intakes for Calcium, Phosphorus, Magnesium, Vitamin D and Fluoride**. Washington, DC: National Academy Press: 1997.

INSTITUTE OF MEDICINE. FOOD AND NUTRITION BOARD. **Dietary Reference Intakes for Energy, Carbohydrate, Fiber, Fat, Fatty Acids, Cholesterol, Protein, and Amino Acids**. Washington, DC: National Academy Press: 2005.

INSTITUTE OF MEDICINE. **Dietary Reference Intakes for Vitamin A, Vitamin K, Arsenic, Boron, Chromium, Copper, Iodine, Iron, Manganese, Molybdenum, Nickel, Silicon, Vanadium, and Zinc**. Washington, DC: National Academy Press, 2001.

INSTITUTE OF MEDICINE. **Dietary reference intakes for Vitamin C, Vitamin E, Selenium, and Carotenoids**. Washington, DC: National Academy Press, 2000.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz**. 3. ed. São Paulo: IMESP, 1985. 523 p.

JAIME, P. C.; LATORRE, M. R. D. O.; FORNÉS, N. S.; ZERBINI, C. A. F. Comparative study among two methods for energy adjustment for nutrient intake. **Nutrire**, v.26, n.único, p.11-8, 2003.

LAUREANO, G. H. C.; TORMAN, V. B.; CRISPIM, S. P.; DEKKERS, A. L.; CAMEY, S. A. Comparison of the ISU, NCI, MSM, and SPADE methods for estimating usual intake: a simulation study of nutrients consumed daily. **Nutrients**, v. 8, n. 3, p. 166, 2016.

LITTLE, R. J. Missing-Data Adjustments in Large Surveys. **Journal of Business & Economic Statistics**. v. 6, n. 3, p. 287–96, 1988.

MARREIRO, D. N.; CRUZ, K. J. C. ; MORAIS, J. B. S.; BESERRA, J. B. ; SEVERO, J. S.; OLIVEIRA, A. R. S. Zinc and Oxidative Stress: Current Mechanisms. **Antioxidants**, v. 6, n. 2, p. 24; 2017.

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

MCNAIR, P.; CHRISTENSEN, M.S.; CHRISTIANSEN, C.; MADSBAD, S.; TRANSBØL, I. Renal hypomagnesaemia in human diabetes mellitus: its relation to glucose homeostasis. **European Journal of Clinical Investigation**, v. 12, n. 1, p. 81-5, 1982.

MORAIS, J. B. S.; SEVERO, J. S.; OLIVEIRA, A. R. S.; CRUZ, K. J. C.; DIAS, T. M. S.; ASSIS, R. C. et al. Magnesium Status and Its Association with Oxidative Stress in Obese Women. **Biological Trace Elem Research**, v. 175, n. 1, p. 306–311, 2017.

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

NIEDZIELSKI, P.; SIEPAK, M. Analytical methods for determining arsenic, antimony and selenium in environmental samples. **Polish Journal of Environmental Studies**, v. 12, n. 6, p. 653- 67, 2003.

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

OHKAWA, H.; OHISHI, N.; YAGI, K. Assay of lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. **Analytical Biochemistry**, v. 95, p. 351–358, 1979.

OLECHNOWICZ, J.; TINKOV, A.; SKALNY, A.; SULIBURSKA, J. Zinc status is associated with inflammation, oxidative stress, lipid, and glucose metabolism. **The Journal of Physiological Sciences**, v. 68, n. 1, p. 19-31, 2018.

OLIVEIRA, A. R. S.; CRUZ, K. J. C.; MORAIS, J. B. S.; SEVERO, J. S.; FREITAS, T. E. C.; VERAS, A.L. et al. Magnesium Status and Its Relationship with C-Reactive Protein in Obese Women. **Biological Trace Element Research**, v. 168, n. 2, p. 296-302, 2015.

PAGLIA, D. E.; VALENTINE, W. N. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. **Journal of Laboratory & Clinical Medicine**, v. 70, n. 1, p. 159-69, 1967.

R DEVELOPMENT CORE TEAM. **R: A Language and Environment for Statistical Computing**. Vienna, Austria: the R Foundation for Statistical, 2019. Computing. ISBN: 3-900051-07-0. URL <http://www.R-project.org/>.

RENKO, K. ; HOFMANN, P. J. ; STOEDTER, M. ; HOLLENBACH, B. ; BEHRENDTS, T. ; KÖHRLE, J. et al. Down-regulation of the hepatic selenoprotein biosynthesis machinery impairs selenium metabolism during the acute phase response in mice. **The FASEB Journal**, v. 23, n. 06, p. 1758-65, 2009.

SARMIENTO, D. ; MONTORFANO, I. ; CERDA, O. ; CÁCERES, M., BECERRA, A. ; CABELLO-VERRUGIO, C. et al. Increases in reactive oxygen species enhance vascular endothelial cell migration through a mechanism dependent on the transient receptor potential melastatin 4 ion channel. **Microvascular Research**, v. 98, p. 187-96, 2015.

SOUVEREIN, O. W.; DEKKERS, A. L.; GEELLEN, A.; HAUBROCK, J.; DE VRIES, J. H.; OCKÉ, M. C. et al. Comparing four methods to estimate usual intake distributions. **European Journal of Clinical Nutrition**, v. 65, Suppl 1:S92-101, 2011.

THOMAS, D.M.; BREDLAU, C.; BOSY-WESTPHAL, A.; MUELLER, M.; SHEN, W.; GALLAGHER, D. et al. Relationships between body roundness with body fat and visceral adipose tissue emerging from a new geometrical model. **Obesity**, v. 21, n.11, p. 2264-71, 2013.

THOMSON, C. D. Assessment of Requirements for Selenium and Adequacy of Selenium Status: a review. **European Journal of Clinical Nutrition**, v. 58, n. 3, p. 391-402, 2004.

TIETZ, N. W. **Clinical guide to laboratory test**. 3 ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company, 1995.

TOPF, J. M.; MURRAY, P. T. Hypomagnesemia and hypermagnesemia. **Reviews in Endocrine and Metabolic Disorders**, v. 4, n. 2, p. 195-206, 2003.

VITOUX, D.; ARNAUD, J.; CHAPPUIS, P. Are copper, zinc and selenium in erythrocytes valuable biological indexes of nutrition and pathology? **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology**, v. 13, n. 03, p.113-28, 1999.

WALLACE, T. M.; LEVY, J. C.; MATTHEWS, D. R. Use and abuse of HOMA modeling. **Diabetes Care**, v. 27, n. 6, p. 1487-95, 2004.

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

WILLETT, W. C.; HOWE, G. R.; KUSHI, L. H. Adjustment for total energy intake in epidemiologic studies. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 65, suppl. 4, p. 1220S-1228S, 1997.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Obesity: Preventing and managing the global epidemic**. Technical report series, Geneva, n. 894, p. 9, 2000.

YANG, T. ; ZHAO, Z. ; LIU, T. ; ZHANG, Z. ; WANG, P. ; XU, S. et al. Oxidative stress induced by Se-deficient high-energy diet implicates neutrophil dysfunction via Nrf2 pathway suppression in swine. **Oncotarget**, v. 8, n. 8, p. 13428–13439, 2017.

ZHANG Y, CHEN X. Reducing selenoprotein P expression suppresses adipocyte differentiation as a result of increased preadipocyte inflammation. **American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism**, v. 300, n. 01, p. E77-85, 2011.

ZHOU, S. ; YU, D. ; NING, S. ; ZHANG, H. ; JIANG, L. ; HE, L. et al. Augmented Rac1 Expression and Activity are Associated with Oxidative Stress and Decline of β Cell Function in Obesity. **Cellular Physiology and Biochemistry**, v. 35, n. 6, p. 2135-48, 2015.

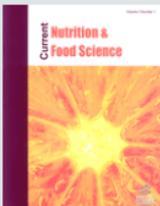
PÁGINAS RESTRITAS
112 A 131

Capítulo 3

Artigo Científico: Association Between Magnesium and Oxidative Stress in Patients with Obesity

Periódico: Current Nutrition & Food Science

Qualis: B1 na área Ciência dos Alimentos



Research Article

Association Between Magnesium and Oxidative Stress in Patients with Obesity

(E-pub Ahead of Print)

Author(s): Ana Raquel Soares de Oliveira, KyriaJayanneClimaco Cruz, Jennifer Beatriz Silva Morais, Juliana Severo, Jessica Beserra, Loanne Rocha dos Santos, Stefany Rodrigues de Sousa Melo, Larissa Martins Luz, Leidejaira Sousa , Emidio Marques de Matos Neto, Betania de Jesus e Silva de Almendra Freitas , Nadir Nogueira , Dilina do Nascimento Marreiro*.

Journal Name: Current Nutrition & Food Science

DOI : 10.2174/1573401315666190730123842

[Journal Home](#)

RESEARCH ARTICLE

Association Between Magnesium and Oxidative Stress in Patients with Obesity

Ana Raquel Soares de Oliveira¹, Kyria Jayanne Climaco Cruz¹, Jennifer Beatriz Silva Morais¹, Juliana Soares Severo¹, Jéssica Batista Beserra¹, Loanne Rocha dos Santos¹, Stéfany Rodrigues de Sousa Melo¹, Larissa Martins Luz¹, Leidejaira Alves de Sousa¹, Emídio Marques de Matos Neto², Betânia de Jesus e Silva de Almendra Freitas¹, Nadir do Nascimento Nogueira¹ and Dilina do Nascimento Marreiro^{1,*}

¹Department of Nutrition, Federal University of Piauí, Minister Petrônio Portella Campus, Ininga, Teresina, Piauí, Brazil; ²Department of Physical Education, Federal University of Piauí, Minister Petrônio Portella Campus, Ininga, Teresina, Piauí, Brazil

Abstract: Background: The role of minerals in preventing the generation of oxidative stress in obese individuals has been evaluated. Magnesium is an antioxidant nutrient and a cofactor of enzymes involved in the cell membrane stabilization, attenuating the effects of oxidative stress.

Objective: To evaluate the association between magnesium and concentrations of thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) in patients with obesity and eutrophic women.

Method: A cross-sectional study was conducted with 73 women, divided into two groups: case group (patients with obesity, n=27) and control group (eutrophic women, n = 46). Measurements of body mass index and waist circumference were performed. Dietary magnesium intake was assessed by the three-day food record using the NutWin software. Urinary magnesium concentration was measured by atomic absorption spectrophotometry method. Plasma concentrations of thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) were also determined.

Results: Mean values of dietary magnesium intake were 161.59 ± 60.04 and 158.73 ± 31.96 for patients with obesity and control group, respectively, with no significant difference between the groups studied ($p > 0.05$). The value of urinary excretion of magnesium was lower than the reference values in both groups, with no significant difference between the groups studied ($p > 0.05$). The plasma concentration of thiobarbituric acid reactive substances was significantly higher in patients with obesity compared to the control group ($p < 0.001$). There was no correlation between levels of magnesium biomarkers and the concentration of TBARS ($p > 0.05$).

Conclusion: Patients with obesity showed a reduced dietary magnesium intake which seems to induce hypomagnesuria as a compensatory mechanism. The marker of oxidative stress evaluated in this study was not influenced by magnesium.

ARTICLE HISTORY

Received: November 28, 2018
Revised: June 05, 2019
Accepted: July 18, 2019

DOI:
10.2174/1573401315666190730123842

Keywords: Biomarkers, magnesium, nutritional status, obesity, oxidative stress, women.

1. INTRODUCTION

Obesity is a chronic multifactorial disease characterized by excessive accumulation of body fat and it is associated with several metabolic disorders such as chronic low-grade inflammation, insulin resistance, and oxidative stress [1, 2].

Obesity-associated oxidative stress contributes to cell injury and it aggravates chronic low-grade inflammation

because the release of inflammatory mediators is increased. In addition, it impairs the translocation of the insulin-mediated glucose transporter type 4 (GLUT4) in adipocytes and a skeletal muscle cell. Oxidative stress also inhibits the transcription of the gene encoding insulin in pancreatic β cells and to adiponectin in adipocytes which can lead to insulin resistance in patients with obesity [3, 4].

The role of minerals in preventing the generation of oxidative stress in obese individuals has been evaluated [5]. Magnesium is an antioxidant mineral and a cofactor of enzymes involved in the cell membrane stabilization attenuating the effects of oxidative stress [6]. On the other hand, magne-

*Address correspondence to this author at the Department of Nutrition, Federal University of Piauí, Minister Petrônio Portella Campus, Ininga, Teresina, Piauí, Brazil; Tel: (86) 99915019 / (86) 88459778; Fax: (86) 32371812; E-mail: dilina.marreiro@gmail.com

Conclusão

6. CONCLUSÃO

- ✓ As mulheres obesas avaliadas apresentam acúmulo de gordura intra-abdominal;
- ✓ A avaliação dos parâmetros do controle glicêmico não revela a existência de resistência à insulina nas mulheres obesas;
- ✓ As mulheres obesas apresentam alterações do perfil lipídico, caracterizadas por concentrações de triglicerídeos e VLDL aumentadas e de HDL-colesterol reduzidas;
- ✓ As mulheres obesas consomem dietas com alto valor energético e concentrações reduzidas de magnésio, selênio e zinco;
- ✓ O estudo aponta a existência de inadequação nutricional nas mulheres obesas, caracterizada por concentrações plasmáticas e eritrocitárias reduzidas dos micronutrientes (magnésio, selênio e zinco) e valores urinários elevados;
- ✓ O estudo revela redução na atividade da enzima superóxido dismutase e aumento das concentrações de leptina e marcador de peroxidação lipídica nas mulheres obesas;
- ✓ Os resultados evidenciam correlação positiva entre os minerais selênio e zinco e a atividade das enzimas superóxido dismutase e glutathione peroxidase nas mulheres com obesidade.

Anexos

ANEXO A –PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP-UFPI

UFPI - UNIVERSIDADE
FEDERAL DO PIAUÍ - CAMPUS
UNIVERSITÁRIO MINISTRO

**PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP****DADOS DO PROJETO DE PESQUISA**

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

Pesquisador: Dilina do Nascimento Marreiro

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 66921117.7.0000.5214

Instituição Proponente: Universidade Federal do Piauí - UFPI

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 2.014.100

Apresentação do Projeto:

Estudo de natureza transversal, analítico, com caso e controle, envolvendo 300 mulheres, na faixa etária entre 20 e 50 anos de idade. As participantes do estudo serão distribuídas em três grupos: grupo experimental I (obesas bariátricas, n=100), grupo experimental II (obesas não bariátricas, n=100) e controle (eutróficas, n=100). Serão realizadas avaliação antropométrica, coleta de material biológico e registro alimentar. A avaliação antropométrica será realizada por meio do índice de massa corpórea, da circunferência da cintura e do pescoço, e da relação cintura-quadril. A análise da ingestão de macronutrientes, zinco, magnésio e selênio será realizada por meio do registro alimentar de três dias, utilizando o programa Nutwin. A análise dos minerais no plasma, eritrócito e urina será realizada por espectrometria de emissão óptica com plasma acoplado indutivamente. As concentrações séricas de glicose e insulina serão determinadas por meio do método enzimático colorimétrico e quimioluminescência, respectivamente. A resistência à insulina será avaliada por meio do cálculo do índice HOMA-IR. A avaliação das concentrações de cortisol sérico e urinário será realizada segundo o método de quimioluminescência. As concentrações séricas de colesterol total, LDL-colesterol, HDL-colesterol e triglicérides serão determinadas segundo método enzimático colorimétrico, por analisador bioquímico automático. A determinação da concentração sérica de zinco-2-glicoproteína será realizada de acordo com o método ELISA do tipo sanduíche. Serão analisados os hormônios TSH, T3 e T4 livres, e T3 e T4 totais pelo método

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

Bairro: Ininga

CEP: 64.049-550

UF: PI

Município: TERESINA

Telefone: (86)3237-2332

Fax: (86)3237-2332

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



UFPI - UNIVERSIDADE
FEDERAL DO PIAUÍ - CAMPUS
UNIVERSITÁRIO MINISTRO



Continuação do Parecer: 2.014.100

de imunoensaio por quimioluminescência. Os anticorpos tireoideanos antitireoperoxidase (TPOAb) e antitireoglobulina (TgAb) serão determinados pelo método de quimioluminescência. As concentrações plasmáticas do malondialdeído serão determinadas pela produção das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS). A atividade da enzima superóxido dismutase eritrocitária e glutatona peroxidase eritrocitária serão determinadas nos eritrócitos pelo método in vitro e da oxidação da glutatona reduzida por um hidroperóxido, respectivamente. A determinação da atividade da enzima catalase será realizada conforme metodologia descrita por Takahara et al. A análise de isoprostanos urinários será determinada por ELISA. A determinação da concentração plasmática de TNF-, IL-6, IL-1, IL-18, IL-10, TGF-, adiponectina e leptina será realizada de acordo com o método Luminex xMAP. A concentração sérica da proteína C reativa será realizada por imunoturbidimetria. A creatinina sérica e a creatinúria de 24h serão determinadas pelo método Lustosa-Basques. Serão coletadas amostras de tecido adiposo visceral e subcutâneo das pacientes obesas durante o intraoperatório de cirurgia bariátrica para investigar o padrão de expressão dos marcadores Akt, IRS, GLUT4, PI3K, AMPK, leptina, adiponectina, zinco-2-glicoproteína, Selenoproteína P, TRPM7, ATGL, LHS, CD36, FAS, UCP, PPAR-, SREBP-1c, Receptores B3-adrenérgicos, NFkB, metalotioneína, Zip 14, TNF-, IL-6, IL-1, IL-18, IL-10, TGF-, deiodinases, receptores de hormônios tireoidianos e de glicorticoides, 11-HSD1, superóxido dismutase, glutatona peroxidase e catalase.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

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

Objetivo Secundário:

1. Determinar as concentrações de zinco, magnésio e selênio plasmático, eritrocitário e urinário;
2. Estimar o consumo alimentar de energia, macro e micronutrientes e sua adequação na dieta;
3. Determinar as concentrações de cortisol, cortisona, ACTH, zinco-2-glicoproteína, adiponectina, leptina, proteína C reativa, hormônios e anticorpos tireoidianos, TNF-, IL-6, IL-1, IL-18, IL-10 e TGF-, substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico e isoprostanos;
4. Avaliar o perfil lipídico, o controle glicêmico, a resistência à insulina e a função renal;
5. Determinar a atividade da enzima superóxido dismutase, glutatona peroxidase e catalase;
6. Quantificar a expressão de genes codificantes para Akt, IRS, GLUT4, PI3K, AMPK, leptina,

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



Continuação do Parecer: 2.014.100

adiponectina, zinco-2-glicoproteína, Selenoproteína P, TRPM7, ATGL, LHS, CD36, FAS, UCP, PPAR-, SREBP-1c, Receptores B3-adrenérgicos, NFkB, metalotioneína, Zip 14, TNF-, IL-6, IL-1, IL-18, IL-10, TGF-, deiodinases, receptores de hormônios tireoidianos e de glicorticoides, 11-HSD1, superóxido dismutase, glutationaperoxidase e catalase.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

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

Benefícios:

As pacientes terão acesso aos resultados dos seus exames bioquímicos, que serão fornecidos após a realização dos mesmos pelos pesquisadores, além de orientação nutricional.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Pesquisa relevante para o processo ensino/aprendizado.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Todos os termos de apresentação foram anexados.

Recomendações:

Sem Recomendações.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Projeto apto a ser iniciado pois encontra-se elaborado em consonância com a Resolução Nº 466/2012.

Considerações Finais a critério do CEP:

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_885107.pdf	10/04/2017 16:26:00		Aceito

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



UFPI - UNIVERSIDADE
FEDERAL DO PIAUÍ - CAMPUS
UNIVERSITÁRIO MINISTRO



Continuação do Parecer: 2.014.100

Outros	cartadeencaminhamento.pdf	10/04/2017 16:24:27	Dilina do Nascimento Marreiro	Aceito
Outros	curriculo.pdf	10/04/2017 16:21:58	Dilina do Nascimento Marreiro	Aceito
Declaração de Pesquisadores	declaracaodospesquisadores.pdf	10/04/2017 15:59:50	Dilina do Nascimento Marreiro	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLEmorbidas.pdf	10/04/2017 15:57:18	Dilina do Nascimento Marreiro	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE.pdf	10/04/2017 15:57:03	Dilina do Nascimento Marreiro	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	projeto comite de etica.docx	21/03/2017 14:52:18	Dilina do Nascimento Marreiro	Aceito
Orçamento	ORCAMENTO.docx	21/03/2017 14:50:30	Dilina do Nascimento Marreiro	Aceito
Cronograma	CRONOGRAMA.docx	21/03/2017 14:49:18	Dilina do Nascimento Marreiro	Aceito
Outros	Urina.docx	21/03/2017 14:48:58	Dilina do Nascimento Marreiro	Aceito
Outros	Registro alimentar.docx	21/03/2017 14:47:58	Dilina do Nascimento Marreiro	Aceito
Outros	Fichade cadastro.docx	21/03/2017 14:45:56	Dilina do Nascimento Marreiro	Aceito
Outros	termodeconfidencialidade.jpeg	21/03/2017 14:43:39	Dilina do Nascimento Marreiro	Aceito
Folha de Rosto	folhaderosto.pdf	21/03/2017 14:39:44	Dilina do Nascimento Marreiro	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

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



UFPI - UNIVERSIDADE
FEDERAL DO PIAUÍ - CAMPUS
UNIVERSITÁRIO MINISTRO



Continuação do Parecer: 2.014.100

TERESINA, 12 de Abril de 2017

Assinado por:
Herbert de Sousa Barbosa
(Coordenador)

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

ANEXO B—ARTIGO RESULTANTE DA DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Biol Trace Elem Res (2015) 168:296–302
 DOI 10.1007/s12011-015-0358-8

Magnesium Status and Its Relationship with C-Reactive Protein in Obese Women

Ana Raquel Soares de Oliveira¹ · Kyria Jayanne Clímaco Cruz¹ · Jennifer Beatriz Silva Morais¹ · Juliana Soares Severo¹ · Taynáh Emannelle Coelho de Freitas¹ · Antonio Lobão Veras² · Amanda Batista da Rocha Romero³ · Célia Colli³ · Nadir do Nascimento Nogueira¹ · Francisco Leonardo Torres-Leal⁴ · Dilina do Nascimento Marreiro¹

Received: 8 January 2015 / Accepted: 27 April 2015 / Published online: 17 May 2015
 © Springer Science+Business Media New York 2015

Abstract This study assessed the relationship between magnesium status and C-reactive protein concentration in obese and nonobese women. This cross-sectional study included 131 women, aged between 20 and 50 years, who were divided into two groups: obese ($n=65$) and control ($n=66$) groups. Magnesium intake was monitored using 3-day food records and NutWin software version 1.5. The plasma, erythrocyte, and urinary magnesium concentrations were determined by flame atomic absorption spectrophotometry. C-reactive protein concentration in serum was measured by immunoturbidimetric assay. The mean values of the magnesium content in the diet were lower than those recommended, though there was no significant difference between groups ($p>0.05$). The mean concentrations of plasma and erythrocyte magnesium were within the normal range, with no significant difference between groups ($p>0.05$). Urinary excretion of this mineral was less than the reference values in both groups, with no significant difference ($p>0.05$). The mean concentration of serum C-reactive protein was within the normal range in both groups, with no significant difference ($p>0.05$). There was a positive correlation between urinary magnesium

and serum C-reactive protein ($p=0.015$). Obese patients ingest low dietary magnesium content, which seems to induce hypomagnesuria as a compensatory mechanism to keep plasma concentrations of the mineral at adequate levels. The study shows a positive correlation between urinary magnesium concentrations and serum C-reactive protein, suggesting the influence of hypomagnesuria on this inflammatory protein in obese women.

Keywords Obesity · Magnesium · C-Reactive protein · Nutritional status

Introduction

Obesity is defined as body fat accumulation in adipose tissue, which results in health implications [1]. This disease is highly prevalent and is associated with atherosclerosis, type 2 diabetes mellitus, breast cancer, and hypertension, and obesity is one of the most serious public health problems; it substantially increases morbidity and mortality from cardiovascular- and cerebrovascular-related disorders [2].

Adipose tissue is an endocrine organ that, when in excess, compromises the immune response, as well as the metabolism of carbohydrates, lipids, and minerals [3]. It does this by producing proinflammatory adipokines, influenced by the anatomical location of fat deposits, which promote the formation of free radicals; for example, visceral fat is more metabolically active than fat in other locations [4–7].

Currently, hormonal, biochemical, and nutritional disorders present in obese individuals have been investigated to elucidate the mechanisms involved in the pathogenesis of obesity. Minerals have been the target of several studies in order to identify and understand their relation to metabolic disorders. Magnesium, for example, has attracted interest from

✉ Dilina do Nascimento Marreiro
 dilina.marreiro@gmail.com

¹ Department of Nutrition, Federal University of Piauí, Campus Minister Petrônio Portela, Ininga, Teresina, Piauí, Brazil

² Clinical Pathology Laboratory Antonio Lobão, Teresina, Piauí, Brazil

³ Department of Food and Experimental Nutrition, Faculty of Pharmaceutical Sciences, University of São Paulo, Butantã, São Paulo, São Paulo, Brazil

⁴ Department of Physiology and Biophysics, Federal University of Piauí, Campus Minister Petrônio Portela, Ininga, Teresina, Piauí, Brazil

Apêndices

APÊNDICE A - FICHA DE CADASTRO DAS PARTICIPANTES DA PESQUISA



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

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

IDENTIFICAÇÃO

Nº Formulário: _____

Nome: _____

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

Endereço: _____

Bairro: _____ Cidade: _____

Telefone: _____ Celular 1: _____ Celular 2: _____

Ocupação: _____ Número de pessoas em casa: _____

HISTÓRIA CLÍNICA

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

PARÂMETROS ANTROPOMÉTRICOS E BIOQUÍMICOS

Peso (kg)	
Estatura (m)	
IMC (kg/m²)	
Circunferência da Cintura (cm)	
Circunferência do Quadril (cm)	
Circunferência do Pescoço (cm)	
Volume Urinário (mL)	

APÊNDICE B- TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO E CULTURA
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
Campus Universitário Ministro Petrônio Portella - Bairro Ininga – Teresina/PI
CEP: 64049-550 - Fone (86) 32 15 5437.

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

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

Pesquisador responsável: Dra. Dilina do Nascimento Marreiro

Instituição/Departamento: UFPI/ Departamento de Nutrição

Pesquisadores participantes: Dra. Dilina do Nascimento Marreiro, Ana Raquel Soares de Oliveira, Kyria Jayanne Clímaco Cruz, Jennifer Beatriz Silva, Larissa Cristina Fontenelle, Loanne Rocha dos Santos, Stéfany Rodrigues de Sousa Melo.

Telefone para contato (inclusive a cobrar): (86) 99911-7297 (tim)/ (86) 99430-2397

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

DESCRIÇÃO DA PESQUISA

Esta pesquisa tem por objetivo avaliar o estado nutricional relativo ao magnésio, selênio e zinco e sua relação com distúrbios endócrino-metabólicos em mulheres obesas mórbidas. Para tanto, a participante será submetida à coleta de sangue venoso para análise do zinco, magnésio, selênio, colesterol total, HDL-colesterol, triglicerídeos, TSH, T3 e T4 livres, T3 e T4 totais, anticorpos tireoideanos antitireoperoxidase e antitireoglobulina, zinco- α 2-glicoproteína, leptina, glicose, insulina, cortisol, cortisona, selenoproteína P, adiponectina, proteína C reativa, TNF- α , IL-6, IL-1 β , IL-1Ra, IL-18, IL-10 e TGF- β , substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico, isoprostanos, creatinina sérica, malondialdeído, bem como à coleta de urina para determinação de zinco, magnésio e selênio urinário, cortisol urinário e creatininúria de 24h e, além disso, será determinado o consumo alimentar por meio de registros alimentares. Não será realizada entrevista gravada ou filmada.

Será também quantificado a expressão dos genes codificantes para: Akt, IRS, GLUT4, PI3K, AMPK, leptina, receptor de leptina, adiponectina, zinco- α 2-glicoproteína, selenoproteína P, selenoproteína S, SELENBP1, TRPM7, ATGL, LHS, CD36, FAS, UCP, PPAR- γ , CEBP α , SREBP-1c, receptores B3-adrenérgicos, NF-kB, MAPK8, metalotioneína, Zip 14, TNF- α , IL-6, IL-1 β , IL-1Ra, IL-18, IL-10, TGF- β , deiodinases, receptores de hormônios tireoidianos e de glicorticoides, 11 β -HSD1, 11 β -HSD2, NADPH oxidase, Nrf2, superóxido dismutase, glutational peroxidase e catalase; quantificar a concentração de zinco, magnésio e selênio no tecido adiposo, bem como quantificar a expressão de microRNAs envolvidos nos distúrbios metabólicos na obesidade.

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

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

Se você concordar em participar do estudo, seu nome e identidade serão mantidos em sigilo. A menos que requerido por lei ou por sua solicitação, somente o

pesquisador, a equipe do estudo, Comitê de Ética independente e inspetores de agências regulamentadoras do governo (quando necessário) terão acesso a suas informações para verificar as informações do estudo. O projeto terá duração de quatro anos, com término previsto para o ano de 2024.

Nomes e assinaturas dos pesquisadores

Ana Raquel Soares de Oliveira _____

Kyria Jayanne Clímaco Cruz _____

Jennifer Beatriz Silva Morais _____

Larissa Cristina Fontenelle _____

Loanne Rocha dos Santos _____

Stéfany Rodrigues de Sousa Melo _____

Dilina do Nascimento Marreiro _____

CONSENTIMENTO DA PARTICIPAÇÃO DA PESSOA COMO SUJEITO

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

Teresina

____/____/____

 Assinatura da participante

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

Testemunhas (não ligadas à equipe de pesquisadores):

Nome: _____

Assinatura: _____

Nome: _____

Assinatura: _____

Observações complementares _____

APÊNDICE C - REGISTRO ALIMENTAR

Registro diário de sua alimentação

Número do Formulário: _____

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

5. Consumo mensal de óleo e sal da família:



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



F: Prato de sobremesa



G: Xícara cheia

Copo americano



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

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

Para se obter exatidão do resultado, é muito importante que a urina seja coletada cuidadosamente. A obtenção da urina será realizada em frasco plástico de 5 litros, previamente desmineralizado, sem conservante e deve ser mantida REFRIGERADA até o horário da entrega.

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

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

ATENÇÃO: Todo o material será fornecido pelo pesquisador.

APÊNDICE E – ARTIGOS E CAPÍTULOS DE LIVRO PUBLICADOS COMO AUTORA E CO-AUTORA DURANTE O PERÍODO DO DOUTORADO

Periódico/ Ano	Título	Autores
Antioxidants/ 2017	Zinc and Oxidative Stress: Current Mechanisms	Dilina Marreiro, Kyria Cruz, Jennifer Morais, Jéssica Beserra, Juliana Severo, Ana Raquel Oliveira .
Biological Trace Element Research/ 2017	Magnesium Status and Its Association with Oxidative Stress in Obese Women	Jennifer Morais, Juliana Severo, Ana Raquel Oliveira , Kyria Cruz, Thaline Dias, Régina Célia de Assis, Célia Colli, Dilina Marreiro.
Biological Trace Element Research/ 2017	Role of Magnesium in Oxidative Stress in Individuals with Obesity	Jennifer Morais, Juliana Severo, Loanne dos Santos, Stéfany Melo, Raisia Santos, Ana Raquel Oliveira , Kyria Cruz, Dilina Marreiro.
Nutrition/ 2017	Effect of magnesium supplementation on insulin resistance in humans: A systematic review	Jennifer Morais, Juliana Severo, Geórgia Alencar, Ana Raquel Oliveira , Kyria Cruz, Dilina Marreiro, Betânia Freitas, Cecília Carvalho, Maria do Carmo Martins, Karoline Frota.
Revista de Alimentação Humana/ 2017	Effect of dietary calcium and vitamin D on cortisol	Jéssica Beserra, Larissa Rodrigues, Priscilla Silva, Ana Raquel Oliveira , Kyria Cruz,

	concentrations in morbidly obese women.	Jennifer Morais, Juliana Severo, Dilina Marreiro, Luana Martins.
Nutrición Clínica Dietética Hospitalaria/ 2017	Dietary intake of vitamin D and its relation to insulin resistance in obese women	Loanne dos Santos, Amanda Braz, Alana Lima, Stéfany Melo, Raisa Santos, Jennifer Morais, Juliana Severo, Kyria Cruz, Ana Raquel Oliveira , Luana Martins, Dilina Marreiro.
Nutrire/ 2017	Role of vitamin D in insulin resistance in obese individuals	Loanne dos Santos, Alana Lima, Amanda Braz, Stéfany Melo, Jennifer Morais, Juliana Severo, Ana Raquel Oliveira , Kyria Cruz, Dilina Marreiro.
Nutrition/ 2017	Role of microRNAs on adipogenesis, chronic low-grade inflammation, and insulin resistance in obesity.	Kyria Cruz, Ana Raquel Oliveira , Jennifer Morais, Juliana Severo, Dilina Marreiro.
Biological Trace Element Research/ 2017	The Effect of Zinc Supplementation on Insulin Resistance in Obese Subjects: a Systematic Review.	Kyria Cruz, Jennifer Morais, Ana Raquel Oliveira , Juliana Severo, Dilina Marreiro.
Revista da Associação Médica Brasileira/ 2017	Hypomagnesemia and its relation with chronic low-grade inflammation in obesity	Ana Raquel Oliveira , Kyria Cruz, Juliana Severo, Jennifer Morais, Taynáh Freitas,

<p>Biological Trace Element Research/ 2018</p>	<p>Zinc and Insulin Resistance: Biochemical and Molecular Aspects.</p>	<p>Rogério Araújo, Dilina Marreiro. Kyria Cruz, Ana Raquel Oliveira, Jennifer Morais, Juliana Severo, Priscyla Mendes, Stéfany Melo, Gustavo Santos, Dilina Marreiro.</p>
<p>Nutrition Clinique et Metabolisme/ 2018</p>	<p>Relationship Between Magnesium Status and Cardiovascular Risk in Obese Women.</p>	<p>Kyria Cruz, Ana Raquel Oliveira, Jennifer Morais, Juliana Severo, Jéssica Beserra, Loanne dos Santos, Célia Colli, Betânia Freitas, Dilina Marreiro.</p>
<p>International Journal for Vitamin and Nutrition Research/ 2019</p>	<p>No Difference in Magnesium Intake between Obese Women and Healthy Controls</p>	<p>Jennifer Morais, Taynáh Freitas, Juliana Severo, Ana Raquel Oliveira, Kyria Cruz, Betânia Freitas, Célia Colli, Dilina Marreiro.</p>
<p>Biological Trace Element Research/ 2019</p>	<p>Association Between Cortisol, Insulin Resistance and Zincin Obesity: a Mini- Review</p>	<p>Jennifer Morais, Juliana Severo, Jéssica Beserra, Ana Raquel Oliveira, Kyria Cruz, Stéfany Melo, Ginivaldo do Nascimento, George de Macedo, Dilina Marreiro.</p>
<p>International Journal for Vitamin and Nutrition Research/ 2019</p>	<p>The Role of Zinc in Thyroid Hormones Metabolism</p>	<p>Juliana Severo, Jennifer Morais, Taynáh Freitas, Ana Andrade, Mayara Feitosa, Larissa Fontenelle, Ana</p>

<p>Revista de Alimentação Humana/ 2019</p>	<p>Effect Of Dietary Calcium And Vitamin D On Cortisol Concentrations In Morbidly Obese Women.</p>	<p>Raquel Oliveira, Kyria Cruz, Dilina Marreiro.</p>
<p>International Journal for Vitamin and Nutrition Research/ 2019</p>	<p>No association between zinc and thyroid activity in obese women</p>	<p>Jéssica Beserra, Jennifer Morais, Juliana Severo, Ana Raquel Oliveira, Kyria Cruz, Emídio Neto, Dilina Marreiro.</p>
<p>Current Nutrition & Food Science/ 2019</p>	<p>Hypomagnesemia in Obese Subjects: Evidence of Systematic Review and Meta-Analysis Hypomagnesemia in Obese</p>	<p>Kyria Cruz, Ana Raquel Oliveira, Suelem Freitas, Gilberto Henriques, Dilina Marreiro</p>

<p>Livro / Editora/ Ano</p>	<p>Título do capítulo</p>	<p>Autores</p>
<p>Saúde Pública e Saúde Coletiva/2019 ISBN 978-85-7247-162-6 DOI10.22533/at.ed.626191103</p>	<p>Zinco e Adipocitocinas: uma Revisão Sistemática de Estudos de Suplementação em Obesos</p>	<p>Ana Raquel Olivera, Kyria Cruz, Jennifer Morais, Juliana Severo, Mickael Sousa, Diana Araujo, Thayanne Sousa, Adriana Paiva, Alessandro Lima, Dilina Marreiro.</p>
<p>Tratado de Nutrição e Dietoterapia/2019</p>	<p>Magnésio</p>	<p>Dilina Marreiro, Ana Raquel Oliveira, Jennifer Morais, Juliana Severo</p>

Tratado de Nutrição
e Dietoterapia/2019

Saúde Pública e
Saúde Coletiva
Dialogando sobre
Interfaces
Temáticas/2019
Prefixo Editorial
ISBN 93243
Prefixo DOI
10.22533

Obesidade

Relação entre Zinco
Plasmático e Índices de
Adiposidade Abdominal em
Mulheres Obesas

Ana Raquel Oliveira, Kyria
Cruz, Larissa Fontenelle, Dilina
Marreiro

Ana Raquel Olivera, Kyria
Cruz, Mickael Sousa, Diana
Araujo, Thayanne Sousa,
Loanne Rocha, Jennifer
Morais, Stéfany Melo, Larissa
Fontenelle, Gilberto Simeone,
Carlos Henrique Nery, Dilina
Marreiro

Saúde Pública e
Saúde Coletiva
Dialogando sobre
Interfaces
Temáticas/2019
Prefixo Editorial
ISBN 93243
Prefixo DOI
10.22533

Relação entre Magnésio
Plasmático e Índices de
Obesidade Abdominal em
Mulheres Obesas

Kyria Cruz, **Ana Raquel
Olivera**, Mickael Sousa, Diana
Araujo, Thayanne Sousa,
Loanne Rocha, Jennifer
Morais, Stéfany Melo, Larissa
Fontenelle, Gilberto Simeone,
Carlos Henrique Nery, Dilina
Marreiro