



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

TESE DE DOUTORADO

**RELAÇÃO ENTRE PARÂMETROS DO  
METABOLISMO DO CORTISOL,  
BIOMARCADORES DOS MINERAIS  
(ZINCO, SELÊNIO E MAGNÉSIO) E A  
RESISTÊNCIA À INSULINA E ESTRESSE  
OXIDATIVO EM MULHERES COM  
OBESIDADE**

Jennifer Beatriz Silva Moraes

TERESINA

2023

**JENNIFER BEATRIZ SILVA MORAIS**

**RELAÇÃO ENTRE PARÂMETROS DO METABOLISMO DO  
CORTISOL, BIOMARCADORES DOS MINERAIS (ZINCO,  
SELÊNIO E MAGNÉSIO) E A RESISTÊNCIA À INSULINA E  
ESTRESSE OXIDATIVO EM MULHERES COM OBESIDADE**

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

**ORIENTADORA: Dra. DILINA DO NASCIMENTO  
MARREIRO**

TERESINA

2023

FICHA CATALOGRÁFICA  
Universidade Federal do Piauí  
Biblioteca Setorial do Centro de Ciências da Saúde  
Serviço de Processamento Técnico

M828r

Morais, Jennifer Beatriz Silva.

Relação entre parâmetros do metabolismo do cortisol, biomarcadores dos minerais (zinco, selênio e magnésio) e a resistência à insulina e estresse oxidativo em mulheres com obesidade / Jennifer Beatriz Silva  
Morais. -- 2023.

148 f. : il.

Tese (Doutorado) – Universidade Federal do Piauí, Centro de Ciências da Saúde, Programa de Pós-Graduação em Alimentos e Nutrição, Teresina, 2023.

“Orientadora: Dra. Dilina do Nascimento Marreiro”

1. Obesidade. 2. Cortisol. 3. Zinco. 4. Selênio. 5. Magnésio. 6. Resistência à Insulina. 7. Estresse Oxidativo. I. Marreiro, Dilina do Nascimento. II. Título.

CDD 616.398

**JENNIFER BEATRIZ SILVA MORAIS**

**RELAÇÃO ENTRE PARÂMETROS DO METABOLISMO DO  
CORTISOL, BIOMARCADORES DOS MINERAIS (ZINCO,  
SELÊNIO E MAGNÉSIO) E A RESISTÊNCIA À INSULINA E  
ESTRESSE OXIDATIVO EM MULHERES COM OBESIDADE**

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

**DATA DA DEFESA: 24/03/2023**

**BANCA EXAMINADORA**

---

Profª. Dra. Dilina do Nascimento Marreiro  
Presidente

---

Profa. Dra. Luciana Rossi Marques  
1º Examinador

---

Profa. Dr. Simão Augusto Lottenberg  
2º Examinador

---

Prof. Dr. Vladimir Costa Silva  
3º Examinador

---

Profa. Dra. Ivone Freires de Oliveira Costa Nunes  
4º Examinador

---

Prof. Dra. Betânia de Jesus e Silva de Almendra Freitas  
1º Suplente

---

Prof. Dr. Marcos Antônio Pereira dos Santos  
2º Suplente

## APRESENTAÇÃO

Esta tese foi gerada mediante um embasamento teórico prévio que sugere a influência da disfunção do tecido adiposo sobre o metabolismo do cortisol e que tal influência pode favorecer alterações na homeostase dos minerais zinco, selênio e magnésio. A maioria dos estudos avaliou a contribuição da adiposidade no aumento das concentrações do cortisol em indivíduos com obesidade, e ainda o efeito dessa disfunção hormonal sobre a homeostase dos minerais. No entanto, existe uma lacuna na literatura que demonstre análises de associação entre as concentrações elevadas de cortisol, parâmetros de minerais e marcadores da resistência à insulina e do estresse oxidativo, em particular, na obesidade.

A presente tese apresenta, inicialmente, uma introdução e justificativa embasada em produções científicas, que permitiram a compreensão dos nossos resultados da pesquisa, bem como apresentação dos objetivos que possibilitam melhor compreensão da relevância do tema.

Em seguida é apresentada a publicação na revista *Hormone and Metabolic Research*, que trata de uma revisão narrativa sobre os mecanismos envolvidos na disfunção do tecido adiposo e repercussões metabólicas associadas à obesidade.

O segundo artigo foi publicado na revista *Biological Trace and Element Research* e aborda aspectos relacionados à atuação do cortisol no metabolismo do zinco e sua relação com a manifestação da resistência à ação da insulina.

Finalmente, o terceiro artigo analisa a relação entre parâmetros do metabolismo do cortisol, biomarcadores dos minerais (magnésio, zinco e selênio) e a resistência à insulina e estresse oxidativo em mulheres com obesidade publicado na revista *Biological Trace and Element Research*.

As considerações finais estão descritas com o intuito apresentar as principais contribuições para o desfecho da pesquisa e as novas perspectivas para avançar no entendimento sobre a influência de

alterações hormonais presentes na obesidade na homeostase de minerais, bem como o impacto de tal influência na resistência à insulina e estresse oxidativo.

As referências bibliográficas estão inseridas após cada artigo e no final desta tese aquelas citadas na introdução. Por fim, estão apresentados os apêndices e anexos, incluindo a descrição dos artigos publicados como autora e coautora durante o período do doutorado.

*Se pude ver mais longe, foi por  
estar sobre ombros de gigantes  
(Isaac Newton)*



## RESUMO

**MORAIS, J. B. S. Relação entre parâmetros do metabolismo do cortisol, biomarcadores dos minerais (magnésio, zinco e selênio) e a resistência à insulina e estresse oxidativo em mulheres com obesidade.** 2023. Tese (Doutorado) – Programa de Pós-Graduação em Alimentos e Nutrição, Universidade Federal do Piauí, Teresina-PI.

A disfunção do tecido adiposo favorece alterações no metabolismo do cortisol, o que pode contribuir para a hipozincemia, hiposelenemia e hipamagneseemia em indivíduos com obesidade. No entanto, ainda não existem dados na literatura sobre a relação entre o cortisol, o metabolismo do zinco, selênio e magnésio e sua repercussão na resistência à insulina e estresse oxidativo em indivíduos com obesidade. Assim, esta tese teve como objetivos: 1) Apresentar os mecanismos envolvidos na estrutura do tecido adiposo, expansibilidade do tecido, disfunção dos adipócitos, bem como o impacto desses eventos na manifestação de importantes distúrbios metabólicos associados à disfunção do tecido adiposo; 2) Atualizar aspectos constantes na literatura sobre a participação do cortisol no desenvolvimento da resistência à insulina, e ainda, a relação desse fato na distribuição do zinco em organismos com obesidade, e 3) Verificar a associação entre parâmetros do metabolismo do cortisol, marcadores dos minerais (magnésio, zinco e selênio) e sua repercussão sobre a resistência à insulina e o estresse oxidativo em mulheres com obesidade. No primeiro estudo, foi conduzida busca nas bases de dados *PubMed*, *Scopus*, *Web of Science* e *Cochrane Library*, sendo incluídos artigos que apresentavam foco na estrutura e remodelação do tecido adiposo, principais mecanismos relacionados a disfunção desse tecido e as implicações metabólicas resultantes desse processo. O terceiro estudo de natureza transversal, envolveu 174 mulheres com idade entre 18 e 50 anos, que foram distribuídas em dois grupos de acordo com o IMC: grupo obesidade (n = 90) e grupo eutrofia (n = 94). Nesse estudo foram

avaliadas as concentrações séricas de cortisol, ACTH e CGB, urinárias de cortisona, THF e THE, atividade das enzimas GPx, SOD e catalase e as concentrações plasmáticas de TBARs, marcadores do controle glicêmico e as concentrações plasmáticas, eritrocitárias e urinárias de zinco, selênio e magnésio. Os resultados revelaram diferenças significativas entre todos os parâmetros do metabolismo do cortisol, exceto o ACTH. As mulheres com obesidade apresentaram redução nas concentrações plasmáticas e eritrocitárias de zinco, selênio e magnésio e elevada excreção urinária. Quanto aos marcadores do estresse oxidativo, verificou-se GPX e TBARs e reduzidos de SOD nas mulheres com obesidade quando comparadas o grupo controle. Houve correlação positiva entre os parâmetros de adiposidade e marcadores do metabolismo do cortisol, bem como do cortisol com marcadores dos minerais avaliados. A correlação canônica entre marcadores do metabolismo do cortisol, minerais e marcadores do controle glicêmico e estresse oxidativo das participantes do estudo não revelou resultado significativo. As mulheres com obesidade avaliadas neste estudo apresentam desordens no metabolismo do cortisol, bem como alterações na homeostase dos minerais avaliados, como hipozincemia, hiposelenemia e hipomagnesemia. Além disso, os dados obtidos sugerem a presença de estresse oxidativo nas mulheres com obesidade avaliadas. No entanto, o estudo de associação não permite identificar que o impacto do cortisol sobre a homeostase dos minerais avaliados compromete o sistema de defesa antioxidante e na sensibilidade à insulina.

**Palavras-chave:** obesidade; cortisol; zinco; selênio; magnésio; resistência à insulina; estresse oxidativo.

## ABSTRACT

MORAIS, J. B. S. **Association between parameters of cortisol metabolism, biomarkers of minerals (zinc, selenium and magnesium) and insulin resistance and oxidative stress in women with obesity.** 2023. Thesis (doctorate) – Postgraduate program in food and nutrition, Federal University of Piauí, Teresina-PI.

Adipose tissue dysfunction favors alterations in cortisol metabolism, which may contribute to hypozincemia, hyposelenemia and hypomagnesemia in individuals with obesity. However, there are still no data in the literature on the relationship between cortisol, zinc, selenium and magnesium metabolism and its impact on insulin resistance and oxidative stress in obese individuals. Thus, this thesis aimed to: 1) To present the mechanisms involved in the structure of adipose tissue, tissue expandability, adipocyte dysfunction, as well as the impact of these events on the manifestation of important metabolic disorders associated with adipose tissue dysfunction; 2) To update constant aspects in the literature about the participation of cortisol in the development of insulin resistance, and also, the relationship of this fact in the distribution of zinc in obese organisms; e 3) To verify the association between parameters of cortisol metabolism, mineral markers (magnesium, zinc and selenium) and their impact on insulin resistance and oxidative stress in obese women. In the first study, a search was conducted in the databases *PubMed*, *Scopus*, *Web of Science* e *Cochrane Library*, including articles that focused on the structure and remodeling of adipose tissue, main mechanisms related to dysfunction of this tissue and the metabolic implications resulting from this process. The third cross-sectional study involved 174 women aged between 18 and 50 years, who were divided into two groups according to BMI: obesity group (n = 90) and normal weight group (n = 94). In this study, serum concentrations of cortisol, ACTH and CGB, urinary cortisone, THF and THE, activities of GPx, SOD and catalase enzymes and plasma concentrations of TBARs, markers of glycemic control and

plasma, erythrocyte and urinary zinc concentrations, selenium and magnesium were evaluated. The results revealed significant differences between all parameters of cortisol metabolism, except ACTH. Obese women had reduced plasma and erythrocyte concentrations of zinc, selenium and magnesium and increased urinary excretion. Regarding oxidative stress markers, reduced GPX and TBARs and SOD were found in women with obesity when compared to the control group. There was a positive correlation between adiposity parameters and markers of cortisol metabolism, as well as between cortisol and markers of the evaluated minerals. The canonical correlation between markers of cortisol metabolism, minerals and markers of glycemic control and oxidative stress of the study participants did not reveal a significant result. The obese women evaluated in this study present disorders in the metabolism of cortisol, as well as changes in the homeostasis of the minerals evaluated, such as hypozincemia, hyposelenemia and hypomagnesemia. In addition, the data obtained suggest the presence of oxidative stress in the evaluated women with obesity. However, the association study does not identify that the impact of cortisol on the homeostasis of the evaluated minerals compromises the antioxidant defense system and insulin sensitivity.

**Keywords:** obesity cortisol; zinc, selenium; magnesium; insulin resistance; oxidative stress.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

### Capítulo 3

Figure 1. White adipose tissue dysfunction.....	31
Figure 2. Role of the immune system in lean versus obese adipose tissue.....	40
Figure 3. Mechanisms of lipid storage in adipocytes and their mobilization from lipid droplets.....	43
Figure 4. Development of dyslipidemia in obesity.....	45

### Capítulo 4

Figure 1. Mechanisms involved in the participation of glucocorticoids on the manifestation of insulin resistance.....	67
Figure 2. Action of cortisol on zinc metabolism.....	68
Figure 3. Zinc participation in mechanisms involved in the insulin signaling pathway.....	71

### Capítulo 5

Figura 1. Análise de correlação linear simples entre parâmetros de adiposidade e as concentrações séricas e urinárias de cortisol.....	96
Figura 2. Análise de correlação linear simples entre o magnésio, zinco e selênio e marcadores do estresse oxidativo das participantes do estudo.....	101
Figura 3. Análise de correlação linear simples entre minerais magnésio, zinco e selênio e marcadores do controle glicêmico das participantes do estudo.....	102
Figura 4. Diagrama da correlação canônica entre marcadores do metabolismo do cortisol, minerais e marcadores do controle glicêmico e estresse oxidativo das participantes do estudo.....	104

## LISTA DE QUADROS

### Capítulo 4

Quadro 1. Valores de referência adotados para os minerais zinco, selênio e magnésio.....	85
Quadro 2. Índices da atividade das enzimas que participam do metabolismo do cortisol.....	88

## LISTA DE TABELAS

### Capítulo 5

Tabela 1 - Valores médios e desvios padrão da idade, parâmetros antropométricos, consumo alimentar e marcadores bioquímicos das mulheres com obesidade e grupo controle.....	92
Tabela 2. Valores médios e desvios padrão dos marcadores do metabolismo do das mulheres com obesidade e grupo controle	94
Tabela 3 - Valores médios e desvios padrão das concentrações plasmáticas, eritrocitárias e urinárias de zinco, selênio e magnésio das mulheres com obesidade e grupo controle.....	95
Tabela 4 - Análise de correlação linear simples entre marcadores do metabolismo do cortisol e as concentrações plasmáticas, eritrocitárias e urinárias de zinco, selênio e magnésio das mulheres com obesidade.....	99

## LISTA DE SIGLAS

11 $\beta$ -HSD-11 $\beta$ -hidroxiesteróide desidrogenase  
ACS - acil-CoA sintetase  
ACTH - hormônio adrenocorticotrófico  
AKT- proteína quinase B  
BAT – tecido adiposo marrom  
CAT- catalase  
CBG - globulina ligadora do cortisol  
CoA -coenzima A  
DP – desvio padrão  
EAR – necessidade média estimada  
EDTA – ácido etileno diaminotetracético  
ER – retículo endoplasmático  
FABP - proteína ligante de ácidos graxos  
FetA – proteína adaptativa Fetuína A  
FFA – ácidos graxos livres  
GLUT4 – transportador de glicose 4  
GPX – glutatona peroxidase  
HbA1C – hemoglobina glicada  
HDL – lipoproteína de elevada densidade  
HIF-1 $\alpha$  - fator 1-alfa induzível por hipóxia  
HOMA IR – modelo de avaliação da homeostase para resistência à insulina  
HPA- eixo hipotálamo-pituitário-adrenal  
IC – intervalo de confiança  
ICP-OES – espectrometria de emissão óptica com plasma acoplado indutivamente  
IGF 1 - fator de crescimento semelhante à insulina tipo 1  
IL-1 $\beta$  - interleucina 1 $\beta$   
IL-6 - interleucina 6  
ILC – células linfoides inatas  
IRS - substrato 1 do receptor de insulina  
LDL - lipoproteína de baixa densidade  
MCP-1 - proteína quimiotática de monocitos-1



MTF 1- fator de transcrição de ligação de elemento de resposta de metal-1  
NEFA – ácidos graxos não esterificados  
NF- $\kappa$ B – fator nuclear Kappa B  
NK – células *natural killer*  
PAI-1 - inibidor do ativador do plasminogênio endotelial 1  
PKC- proteína quinase C  
PLIN A – perilipina A  
RDA – ingestão dietética recomendada  
ROS – espécies reativas de oxigênio  
SOD -superóxido dismutase  
TGF- $\beta$  – fator de crescimento- $\beta$   
THE - tetrahydrocortisona  
THF - tetrahydrocortisol  
TNF- $\alpha$  – fator de necrose tumoral  $\alpha$   
TREG – células regulatórias T  
UCP1 – proteína desacopladora 1  
UL – limite superior tolerável de ingestão  
UPRs - resposta de proteína desdobrada  
VEGF - fator de crescimento endotelial vascular  
VLDL – lipoproteína de muito baixa densidade  
VLDL-c – proteína de muito baixa densidade  
WAT – tecido adiposo branco  
ZIP -14 – proteína transportadora de zinco 14

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO.....</b>	<b>21</b>
<b>2 OBJETIVOS.....</b>	<b>22</b>
2.1 Objetivos gerais.....	22
2.2. Objetivos específicos.....	23
<b>3 ADIPOSE TISSUE DYSFUNCTION: IMPACT ON METABOLIC CHANGES?.....</b>	<b>26</b>
3.1 Abstract.....	26
3.2 Introduction.....	27
3.3 Literature Search.....	29
3.4 Structure and Remodeling of Adipose Tissue.....	29
3.5 Metabolic and Endocrine Functions of the Adipose Tissue.....	34
3.6 Adipose Tissue Dysfunction and Metabolic Implications.....	36
3.7 Insulin Resistance and Dyslipidemia.....	42
3.8 Conclusion.....	46
3.9 Referencias.....	47
<b>4 ASSOCIATION BETWEEN CORTISOL, INSULIN RESISTANCE AND ZINC IN OBESITY: A MINI-REVIEW.....</b>	<b>60</b>
4.1 Abstract.....	60
4.2 Introduction.....	61
4.3 Obesity, Insulin Resistance, and Cortisol.....	62
4.4 Influence of Cortisol on Zinc Metabolism: What Are Its Effect on Insulin Resistance?.....	66
4.5 Referencias.....	73
<b>5 RELAÇÃO ENTRE PARÂMETROS DO METABOLISMO DO CORTISOL, BIOMARCADORES DOS MINERAIS (MAGNÉSIO, ZINCO E SELÊNIO) E A</b>	<b>78</b>

<b>RESISTÊNCIA À INSULINA E ESTRESSE OXIDATIVO EM MULHERES COM OBESIDADE.....</b>	
<b>5.1 Resumo.....</b>	78
<b>5.2 Introdução.....</b>	79
<b>5.3 Métodos.....</b>	80
5.3.1 Caracterização do estudo e protocolo experimental.....	80
5.3.2 Avaliação dos parâmetros antropométricos.....	81
5.3.3 Avaliação do consumo alimentar.....	82
5.3.4 Coleta e processamento do material biológico.....	83
5.3.5 Avaliação dos parâmetros bioquímicos do zinco, selênio e magnésio.....	84
5.3.6 Determinação dos parâmetros do controle glicêmico.....	85
5.3.7 Determinação da atividade de enzimas antioxidantes.....	86
5.3.8 Determinação das concentrações plasmáticas de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico.....	86
5.3.9 Determinação dos marcadores do metabolismo do cortisol.....	87
5.3.10 Análise estatística.....	88
<b>5.4 Resultados.....</b>	89
5.4.1 Caracterização antropométrica, bioquímica e dietética.....	92
5.4.2 Análise de marcadores do metabolismo do cortisol.....	94
5.4.3 Avaliação do estado nutricional relativo ao zinco, selênio e magnésio.....	95
5.4.4 Relação entre parâmetros de adiposidade e marcadores do metabolismo do cortisol.....	96
5.4.5 Relação entre marcadores do cortisol e minerais.....	97
5.4.6 Relação entre marcadores do cortisol, minerais, resistência à insulina e estresse oxidativo.....	99
<b>5.5 Discussão.....</b>	105
<b>5.6 Conclusões.....</b>	108
<b>5.7 Referências.....</b>	111
<b>6 CONCLUSÕES.....</b>	118

<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>120</b>
<b>ANEXO 1 – PARECER CONSUBSTANCIADO DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA.....</b>	<b>128</b>
<b>APÊNDICE 1 – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO.....</b>	<b>133</b>
<b>APÊNDICE 2 – FICHA DE CADASTRO.....</b>	<b>138</b>
<b>APÊNDICE 3 – REGISTRO ALIMENTAR.....</b>	<b>139</b>
<b>APÊNDICE 4 – INSTRUÇÕES PARA COLETA DE URINA DE 24 HORAS.....</b>	<b>143</b>
<b>APÊNDICE 5 –ARTIGOS PUBLICADOS COMO AUTORA E COAUTORA DURANTE O PERÍODO DO DOUTORADO.....</b>	<b>144</b>

# 1 INTRODUÇÃO

A obesidade é caracterizada pelo acúmulo excessivo de gordura corporal decorrente do desequilíbrio entre o consumo de energia e o gasto energético, com etiologia complexa e multifatorial, envolvendo fatores genéticos e ambientais que podem comprometer a saúde e aumentar a morbimortalidade<sup>1</sup>. Os dados disponíveis sobre a prevalência de obesidade revelam que existem aproximadamente de 600 milhões adultos obesos, o que corresponde a 13% da população mundial adulta<sup>2</sup>. No Brasil, a prevalência de obesidade triplicou nas últimas quatro décadas, sendo que de acordo com os dados da Vigilância de Fatores de Risco e Proteção para Doenças Crônicas por Inquérito Telefônico (VIGITEL)<sup>3</sup>, 20,3% da população adulta residente nas capitais brasileiras encontra-se com obesidade.

Esse cenário epidemiológico é preocupante, pois a adiposidade corporal em valores elevados constitui fator de risco importante para a mortalidade e ocorrência de outras doenças crônicas não transmissíveis, como as doenças cardiovasculares, diabetes mellitus e alguns tipos de câncer<sup>4</sup>. Nesse sentido, destaca-se que disfunção do tecido adiposo constitui a base fisiopatológica da obesidade e é caracterizada pela hipertrofia de adipócitos, redução da angiogênese, inflamação crônica de baixo grau e desordens hormonais importantes, como por exemplo alterações no metabolismo do cortisol, um glicocorticoide com secreção e sensibilidade comprometidas em indivíduos com obesidade<sup>5-7</sup>.

É oportuno ressaltar que a literatura tem demonstrado a relevância da desregulação do eixo hipotalâmico-pituitário-adrenal (HPA) na presença da disfunção do tecido adiposo como fator contribuinte para acentuar a síntese e secreção de cortisol, o que conseqüentemente favorece o aumento do risco para o desenvolvimento de desordens metabólicas associadas a obesidade<sup>8</sup>. Destaca-se que o cortisol atua como importante regulador da função endócrina, do metabolismo e diferenciação de adipócitos, contribuindo na adipogênese e aumento dos estoques de gordura visceral<sup>9</sup>. Além disso, esse hormônio também

acentua o estresse oxidativo e pode contribuir para a manifestação da resistência à ação da insulina<sup>10</sup>.

Associado a isso, estudos têm demonstrado a influência do cortisol no metabolismo de micronutrientes, em particular dos minerais zinco, selênio e magnésio, com alguns mecanismos já fundamentados. Pesquisas realizadas com base molecular revelam a participação do cortisol no aumento da expressão de genes codificantes para metalotioneína e proteína transportadora de zinco ZIP-14, proteínas que acumulam o zinco em tecidos específicos como hepático e adiposo, favorecendo a manifestação do quadro de hipozincemia, em particular em indivíduos com obesidade<sup>7,11</sup>.

O cortisol também influencia na homeostase dos minerais magnésio e selênio por favorecer a manifestação do estresse oxidativo, bem como por alterar a atividade e a expressão de enzimas do sistema de defesa antioxidante. O estresse oxidativo, exacerbado pela presença do cortisol, por sua vez, favorece o esgotamento de componentes do sistema de defesa antioxidante não enzimático, a exemplo dos minerais selênio e magnésio. Assim, a redução das concentrações desses nutrientes no soro de indivíduos com obesidade pode comprometer suas funções no metabolismo lipídico, na ação da insulina e na atividade antioxidante<sup>12-16</sup>.

Nessa perspectiva, embora já tenha sido demonstrado a influência da disfunção do tecido adiposo no metabolismo do cortisol com impacto importante na homeostase dos minerais magnésio, zinco e selênio, ainda há lacuna na literatura com dados robustos que possam fundamentar o efeito de tais alterações na manifestação da resistência à ação da insulina e do estresse oxidativo na obesidade. Assim, este estudo teve como objetivo verificar relação entre parâmetros do metabolismo do cortisol, biomarcadores dos minerais (zinco, selênio e magnésio) e sua repercussão sobre a resistência à insulina e o estresse oxidativo em mulheres com obesidade.

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivos gerais**

#### *Artigo 1:*

- Apresentar os mecanismos envolvidos na estrutura do tecido adiposo, expansibilidade do tecido, disfunção dos adipócitos, bem como o impacto desses eventos na manifestação de importantes distúrbios metabólicos associados à disfunção do tecido adiposo.

#### *Artigo 2:*

- Atualizar aspectos constantes na literatura sobre a participação do cortisol no desenvolvimento da resistência à insulina, e ainda, a relação desse fato na distribuição do zinco em organismos com obesidade.

#### *Artigo 3:*

- Verificar a associação entre parâmetros do metabolismo do cortisol, marcadores dos minerais (zinco, selênio e magnésio) e a resistência à insulina e o estresse oxidativo em mulheres com obesidade.

### **2.2. Objetivos específicos**

#### *Artigo 1:*

- Caracterizar a estrutura e remodelação do tecido adiposo;
- Descrever as funções metabólicas e endócrinas do tecido adiposo;
- Apresentar o impacto da disfunção do tecido adiposo na manifestação de alterações metabólicas;

- Revisar os mecanismos envolvidos nas vias de sinalização da ação da insulina e no metabolismo lipídico na disfunção do tecido adiposo.

*Artigo 2:*

- Atualizar os aspectos que caracterizam a disfunção do tecido adiposo na obesidade e que possuem relação com o metabolismo do cortisol e a resistência à insulina;
- Descrever aspectos que caracterizam a contribuição do cortisol sobre o metabolismo do zinco, e conseqüentemente, na manifestação da resistência à ação da insulina.

*Artigo 3:*

- Determinar marcadores do metabolismo do cortisol (cortisol sérico e urinário, hormônio adrenocorticotrófico e globulina ligadora de cortisol e as concentrações urinárias de cortisona, tetrahydrocortisol e tetrahydrocortisona);
- Estimar a atividade enzimática da 11 $\beta$ -hidroxiesteroide desidrogenase e 5 $\beta$ -redutase;
- Avaliar as concentrações plasmáticas, eritrocitárias e urinárias de zinco, selênio e magnésio;
- Avaliar o índice de resistência à insulina (HOMA-IR);
- Determinar parâmetros do estresse oxidativo (concentrações plasmáticas de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico) e a atividade eritrocitária de enzimas do sistema de defesa antioxidante;
- Estimar a quantidade de energia, macronutrientes, zinco, selênio e magnésio na dieta.



## **Capítulo 3: Adipose Tissue Dysfunction: Impact on Metabolic Changes?**

**Periódico:** Hormone and Metabolic Research

**Qualis:** B1

**Fator de impacto:** 2,778

**Scopus Citescore 2022:** 5



## Adipose Tissue Dysfunction: Impact on Metabolic Changes?

### Authors

Jennifer Beatriz Silva Moraes, Thaline Millany da Silva Dias, Bruna Emanuele Pereira Cardoso, Mickael de Paiva Sousa, Thayanne Gabryelle Visgueira de Sousa, Diana Stefany Cardoso de Araújo, Dilina do Nascimento Marreiro

### Affiliation

Nutrition, Universidade Federal do Piauí, Teresina, Brazil

### Key words

structure of adipose tissue, adipose tissue dysfunction, metabolic dysfunction, tissue expandability

received 31.05.2022

accepted after revision 11.08.2022

published online 29.09.2022

### Bibliography

Horm Metab Res 2022; 54: 785–794

DOI 10.1055/a-1922-7052

ISSN 0018-5043

© 2022. Thieme. All rights reserved.

Georg Thieme Verlag, Rüdigerstraße 14, 70469 Stuttgart, Germany

### Correspondence

Dr. Dilina do Nascimento Marreiro  
Universidade Federal do Piauí, Nutrition, Rua Hugo Napoleão 665  
64048–320 Teresina  
Brazil  
Tel.: 55(86)98845–9778, Fax: 32372062  
dilina.marreiro@gmail.com

### ABSTRACT

Adipose tissue is a metabolically dynamic organ that is the primary site of storage for excess energy, but it serves as an endocrine organ capable of synthesizing a number of biologically active compounds that regulate metabolic homeostasis. However, when the capacity of expansion of this tissue exceeds, dysfunction occurs, favoring ectopic accumulation of fat in the visceral, which has been implicated in several disease states, most notably obesity. This review highlights the mechanisms involved in the structure of adipose tissue, tissue expandability, adipocyte dysfunction, as well as the impact of these events on the manifestation of important metabolic disorders associated with adipose tissue dysfunction. A literature search using PubMed, Web of Science, Scopus, and Cochrane databases were used to identify relevant studies, using clinical trials, experimental studies in animals and humans, case-control studies, case series, letters to the editor, and review articles published in English, without restrictions on year of publication. The excessive ectopic lipid accumulation leads to local inflammation and insulin resistance. Indeed, overnutrition triggers uncontrolled inflammatory responses white adipose tissue, leading to chronic low-grade inflammation, therefore fostering the progression of important metabolic disorders. Thus, it is essential to advance the understanding of the molecular mechanisms involved in adipose tissue dysfunction in order to mitigate the negative metabolic consequences of obesity.

### Introduction

Adipose tissue is an organ that performs a lot of significant physiological functions, which is why excess of adipose tissue in the body results in pathological states in many of its organs and systems [1]. Adipose tissue is not only a tissue, which stores fat and plays a protective role, it is also an important endocrine organ where signals sent from different tissues are generated and integrated. Adipose tissue is both morphologically and physiologically differentiated [2].

Adipose tissue consists of three types of adipocytes: white, brown, and beige, which have markedly different functions [3]. White adipose tissue (WAT) is the body's main energy reservoir, providing substrates for other tissues, such as muscle and liver [2]. Brown adipose tissue (BAT), on the other hand, specializes in heat generation by mechanisms associated with the oxidation of fatty acids, mainly through specific mitochondrial decoupling protein (UCP1), which dissipates the proton gradient along the inner mitochondrial membrane [1].

The beige adipocytes (also called inducible brown adipocytes, brown-in-white, or brite adipocytes) appear to differ from brown adipocytes not only in their respective location in WAT versus BAT depots, but also in their developmental program, and their responsiveness to adrenergic signaling with respect to mitochondrial regulation and UCP1 expression [3, 4].

Associated with this, we highlight the compartmentalization of adipose tissue in subcutaneous and visceral [5]. Subcutaneous fat is located beneath the skin and typically represents 80% or more of total fat mass in humans, concentrated in the abdominal and gluteofemoral depots [4, 5]. In visceral adipose tissue, fat is located in the peritoneal cavity, corresponding to the omental and mesenteric depots [3]. WAT is an essential endocrine organ, secreting numerous hormones and other factors, collectively termed adipokines. Adipokines play major roles in regulating whole-body metabolism, including promoting insulin sensitivity (e. g., adiponec-

## **3 ADIPOSE TISSUE DYSFUNCTION: IMPACT ON METABOLIC CHANGES?**

Este capítulo apresenta o artigo científico: Morais J. B. S.; Dias, T. M. D. S.; Cardoso, B. E. P.; Sousa, M. P.; Sousa, T. G. V., Araújo, D. S. C.; Marreiro, D.D. N. Adipose Tissue Dysfunction: Impact on Metabolic Changes? *Hormone and Metabolic Research*. 2022 Dec;54(12):785-794. doi: 10.1055/a-1922-7052.

### **3.1 Abstract**

Adipose tissue is a metabolically dynamic organ that is the primary site of storage for excess energy, but it serves as an endocrine organ capable of synthesizing a number of biologically active compounds that regulate metabolic homeostasis. However, when the capacity of expansion of this tissue exceeds, dysfunction occurs, favoring ectopic accumulation of fat in the visceral, which has been implicated in several disease states, most notably obesity. This review highlights the mechanisms involved in the structure of adipose tissue, tissue expandability, adipocyte dysfunction, as well as the impact of these events on the manifestation of important metabolic disorders associated with adipose tissue dysfunction. A literature search using Pubmed, Web of Science, Scopus, and Cochrane databases were used to identify relevant studies, using clinical trials, experimental studies in animals and humans, case-control studies, case series, letters to the editor, and review articles published in English, without restrictions on year of publication. The excessive ectopic lipid accumulation leads to local inflammation and insulin resistance. Indeed, overnutrition triggers uncontrolled inflammatory responses white adipose tissue, leading to chronic low-grade inflammation, therefore fostering the progression of important metabolic disorders. Thus, it is essential to advance the understanding of the molecular mechanisms involved in adipose tissue dysfunction in order to mitigate the negative metabolic consequences of obesity. Adipose tissue is a metabolically dynamic organ that is the primary site

of storage for excess energy, but it serves as an endocrine organ capable of synthesizing a number of biologically active compounds that regulate metabolic homeostasis. However, when the capacity of expansion of this tissue exceeds, dysfunction occurs, favoring ectopic accumulation of fat in the visceral, which has been implicated in several disease states, most notably obesity. This review highlights the mechanisms involved in the structure of adipose tissue, tissue expandability, adipocyte dysfunction, as well as the impact of these events on the manifestation of important metabolic disorders associated with adipose tissue dysfunction. A literature search using Pubmed, Web of Science, Scopus, and Cochrane databases were used to identify relevant studies, using clinical trials, experimental studies in animals and humans, case-control studies, case series, letters to the editor, and review articles published in English, without restrictions on year of publication. The excessive ectopic lipid accumulation leads to local inflammation and insulin resistance. Indeed, overnutrition triggers uncontrolled inflammatory responses white adipose tissue, leading to chronic low-grade inflammation, therefore fostering the progression of important metabolic disorders. Thus, it is essential to advance the understanding of the molecular mechanisms involved in adipose tissue dysfunction in order to mitigate the negative metabolic consequences of obesity.

**Keywords:** structure of adipose tissue; adipose tissue dysfunction; metabolic dysfunction; tissue expandability.

### 3.2 Introduction

Adipose tissue is an organ that performs a lot of significant physiological functions, which is why excess of adipose tissue in the body results in pathological states in many of its organs and systems<sup>1</sup>. Adipose tissue is not only a tissue, which stores fat and plays a protective role, it is also an important endocrine organ where signals sent from different tissues are generated and integrated. Adipose tissue is both morphologically and physiologically differentiated<sup>2</sup>.

Adipose tissue consists of three types of adipocytes: white, brown, and beige, which have markedly different functions<sup>3</sup>. White

adipose tissue (WAT) is the body's main energy reservoir, providing substrates for other tissues, such as muscle and liver<sup>2</sup>. Brown adipose tissue (BAT), on the other hand, specializes in heat generation by mechanisms associated with the oxidation of fatty acids, mainly through specific mitochondrial decoupling protein (UCP1), which dissipates the proton gradient along the inner mitochondrial membrane<sup>1</sup>.

The beige adipocytes (also called inducible brown adipocytes, brown-in-white, or brite adipocytes) appear to differ from brown adipocytes not only in their respective location in WAT versus BAT depots, but also in their developmental program, and their responsiveness to adrenergic signaling with respect to mitochondrial regulation and UCP1 expression<sup>3,4</sup>.

Associated with this, we highlight the compartmentalization of adipose tissue in subcutaneous and visceral<sup>5</sup>. Subcutaneous fat is located beneath the skin and typically represents 80% or more of total fat mass in humans, concentrated in the abdominal and gluteofemoral depots<sup>4,5</sup>. In visceral adipose tissue, fat is located in the peritoneal cavity, corresponding to the omental and mesenteric depots<sup>3</sup>. WAT is an essential endocrine organ, secreting numerous hormones and other factors, collectively termed adipokines. Adipokines play major roles in regulating whole-body metabolism, including promoting insulin sensitivity (e. g., adiponectin), insulin resistance (e. g., resistin, RBP4, lipocalin), and inflammation (e. g., TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-1b, IL-8, IL-18, and sFRP5)<sup>6</sup>.

An important aspect is the fact that the physiological expansion of subcutaneous adipose tissue, in particular, constitutes a safe storage place for excess lipids, a factor that contributes to the protection of the individual against lipotoxicity, with reduction of ectopic fat accumulation, mainly in the liver and skeletal muscle<sup>7</sup>. However, when the capacity of expansion of this tissue is exceeded, dysfunction occurs and does not expand properly to store the energy excess. This induces ectopic fat deposition in other tissues that regulates glucose homeostasis, an event commonly defined as "lipotoxicity". This mechanism leads to systemic insulin resistance and an increased risk of

type 2 diabetes<sup>8,9,10</sup>. Numerous deleterious effects have been associated with the unhealthy expansion of the WAT, including inflammation, fibrosis, hypoxia, altered adipokines secretion, and mitochondrial dysfunction<sup>4,5</sup>.

Therefore, the objective of this review is to bring knowledge on mechanisms involved in the structure of adipose tissue, tissue expandability, adipocyte dysfunction, as well as the impact of these events on the manifestation of important metabolic disorders associated with adipose tissue dysfunction.

### **3.3 Literature search**

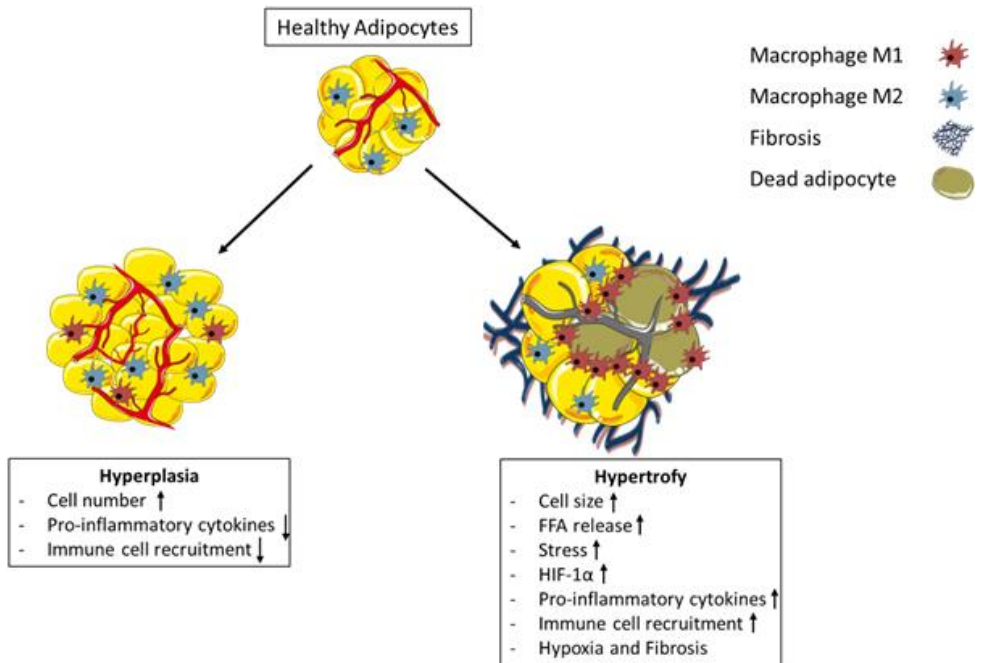
A literature search using Pubmed, Web of Science, Scopus, and Cochrane databases were used to identify relevant studies, using clinical trials, experimental studies in animals and humans, case-control studies, case series, letters to the editor, and review articles published in English, without restrictions on year of publication. The following keywords, alone or in conjunction, were used to find relevant articles: “adipose tissue”, “adipose tissue dysfunction”, “white adipose tissue”, “brown adipose tissue”, “adipocytes”, “adipogenesis”, “lipolysis”, “lipogenesis”, “metabolic dysfunction” and “obesity”. All eligible studies were in English. For this review, the inclusion criteria focused on structure and remodeling of adipose tissue, adipose tissue dysfunction and metabolic implications and main metabolic disorders arising from adipose tissue dysfunction.

### **3.4 Structure and Remodeling of Adipose Tissue**

The adipose tissue is a specialized connective tissue, formed by adipocytes, surrounded by a basal lamina and reticular fibers and constitutes the largest reserve of energy of the human body. The excess energy is stored in the form of triglycerides, and its efficiency is due to the ability to be stored in large quantities, dispensing with the presence of water as a solvent<sup>11,12</sup>.

The WAT presents large and spherical cells, which are formed by a single drop of fat that forms after the fusion of numerous smaller droplets and presents septa of connective tissue containing vessels and nerves <sup>13</sup>. BAT, on the other hand, has its staining determined by the large amount of mitochondria and blood vessels, as well as having smaller cells than unilocular ones and presenting a polygonal shape and numerous droplets of fat in its cytoplasm. This tissue has a reduced amount in adults, being more present in fetuses and newborns due to its specialty in heat production, a process stimulated by the action of norepinephrine <sup>14</sup>.

Recent studies have shown that in addition to white and brown adipocytes, there is also beige adipocyte, which does not present the same embryonic expression profile in all white fat deposits <sup>1,4,15</sup>. These differences are important because beige adipocytes may present different origins and characteristics of other tissues, such as the amount of nerve fibers, vascularization and environmental exposure conditions. It is noteworthy that subcutaneous fat presents expressive amounts of



beige cells, occurring mainly by cold stimulation and  $\beta$ 3-adrenergic receptors<sup>16</sup>.

Fat cells develop derived from cells called pre-adipocytes, which are associated with blood vessels and derived from endothelial cells of adipose tissue (Figure 1). During embryonic development, the vascular network develops before the adipocytes and the extracellular matrix that supports the blood vessels is the first to be deposited, showing a crucial role of the vascular system in the development of adipose tissue. Thus, at this stage of development there is a close communication between stroma-vascular fraction and adipocytes, which results in a mutual control between angiogenesis and adipogenesis<sup>17</sup>.

Pre-adipocytes are multipotent cells, capable of differentiating into macrophages, muscle or bone progenitors, brown fat, and other cell types. Pre-adipocytes generate adipokines, paracrine factors, hormones and metabolic signals differently from mature adipose cells<sup>18</sup>. In addition, they exhibit robust innate immune responses to bacterial antigens, recruit macrophages and other immune effectors, as well as participate in the process of regulating the immunological activity of adipose tissue<sup>19</sup>. Thus, the gene expression profiles of these cells are closer to those of macrophages than to those of the fat cells themselves<sup>20</sup>.

**Figure 1. White adipose tissue dysfunction.**

Hypertrophic expansion through increased adipocyte size is associated with harmful phenomena such as increased release of basal fatty acids, release of pro-inflammatory cytokines, recruitment of immune cells, hypoxia, fibrosis, decreased adiponectin, and impaired insulin sensitivity.

Pre-adipocytes differ in fat cells in response to insulin-like growth factor 1 (IGF-1), lipids, glucocorticoids, and other signs. IGF-1, for example, is probably the main promoter of adipogenesis, and not insulin itself, as insulin receptors are not expressed in high amounts until the pre-adipocytes become mature adipose cells<sup>17</sup>.

There are at least two pre-adipocyte subtypes identified in adipose tissue, the first with the highest response to replication,



differentiation, and expression of adipogenic transcription factors and lower apoptosis in response to tumor necrosis factor  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ). The second is a subtype resistant to adipogenesis, ensuring that not all pre-adipocytes become adipose cells under favorable conditions. Such subtypes may facilitate tissue plasticity, for example by differentiating into fat cells with distinct properties, or by selecting for the apoptosis-resistant subtype<sup>21</sup>. It is noteworthy that adipocytes have different characteristics in the various stages of development, and in adulthood, there is a well-developed vascular network, where each adipocyte is surrounded by at least one capillary, fenestrated and rich in transendothelial channels, which allow communication with adipocytes. This vascular network is dynamic and continuously adapted to the changes in nutritional flows, which influences the behavior of adipocytes during WAT expansion<sup>22</sup>.

About the expansion of subcutaneous adipose tissue, this is determined by the formation of new adipocytes and by the growth capacity from those already formed. New adipocytes develop from their precursors, known as pre-adipocytes, vascular stroma, as well as adipose or mesenchymal stem cells. The expansion of this tissue is regulated by the expression of genes, proteins and metabolites of different cell types, and depends mainly on the total number of stem cells available to differentiate into new adipocytes<sup>3,23</sup>.

Adipocyte hypertrophy is usually associated with abnormal capillary formation, while hyperplasia is associated with increased angiogenesis and the development of new capillaries, the latter being the least harmful form of adipose tissue expansion, given the formation of small, well-irrigated adipocytes with less inflammatory activity than hypertrophic ones<sup>24</sup>.

In order to store excess energy, the adipose tissue undergoes remodeling processes, among them: (1) Higher nutrient flux<sup>1</sup>; (2) Tissue expansion through coordination of hypertrophy and/or hyperplasia<sup>2</sup>; (3) Microvascular compression by the adipocytes' hypertrophy<sup>2</sup>; (4) Reduction of O<sub>2</sub> saturation on the cells<sup>5</sup>; (5) Increase mitochondrial dysfunction and Reactive Oxygen Species (ROS) generation on mitochondria<sup>1</sup> (6) Impairment on Redox homeostasis,

increasing ROS production<sup>1</sup>; (7) Pro-oxidative environment and with endoplasmic reticulum (ER) stress<sup>25</sup>; (8) ER stress and mitochondrial dysfunction<sup>25</sup>; (9) Oxidative Stress<sup>3</sup>; (10) increase the macrophage migration and polarization to a pro-inflammatory phenotype, and (11) Remodeling of the vasculature and extracellular matrix<sup>25</sup>.

It is worth mentioning that during the process of expansion of adipose tissue, local hypoxia phenomena may occur, which increases the expression of angiogenic, cytokine and adipokine factors. The balance between these factors determines the density and permeability of the vessel and, therefore, the physiological or pathophysiological expansion of the adipose tissue<sup>26</sup>.

That being the case, angiogenesis is a physiological process through which new blood vessels form from preexisting vessels, being important for the maintenance of adequate tissue remodeling and expansion<sup>27</sup>. In WAT remodeling, the angiogenesis frequently precedes adipogenesis, however, in an inefficiency situation, such process seems to play an important role in adipose tissue dysfunction<sup>28,29</sup>.

It is appropriate to mention the important role of the extracellular matrix in the tissue expansion process of adipose tissue as it deals with a complex structure composed of different proteins, proteoglycans and polysaccharides and is involved in the modulation of biological processes such as cell adhesion, migration, repair, survival and development. In adipose tissue, in particular, the extracellular matrix is composed mainly of collagen types I, II, III and IV, fibronectin and laminin, besides allowing the formation of new blood vessels, essential process in the expansion of healthy adipose tissue<sup>30</sup>.

The adipose tissue expansion depends on extracellular matrix remodeling through hydrolysis/collagen redeposition cycles. However, when its expansion occurs in a dysfunctional way, excessive and unregulated accumulation of collagen and other extracellular matrix components occurs, resulting in fibrosis, which limits the adipocyte expansion capacity<sup>31</sup>.

### **3.5 Metabolic and Endocrine Functions of the Adipose Tissue**

Regarding the metabolic functions of WAT, it must be noted that in a situation of positive energy balance, this tissue has the function of storing energy in the form of lipids, mainly in intracellular triacylglycerol droplets<sup>32</sup>. These droplets are coated by a group of proteins, the main one being Perilipin A (Per), which prevents the contact of the triacylglycerols stored with the cytoplasm<sup>33,34</sup>.

However, in a negative energy balance situation, lipolysis occurs, a process characterized by the hydrolysis of triacylglycerols in free fatty acids and glycerol, which in turn, are released into the bloodstream and later used by other tissues<sup>35</sup>. In this way, adipose tissue is able to recognize the metabolic state of the organism, not only by local energy sensors, but also by means of different signaling pathways, mainly of the intestine<sup>11</sup>. In addition, adipose tissue has other functions such as thermal insulation, action in inflammatory processes, besides playing an important role in glucose homeostasis and endocrine function, such as leptin release<sup>12</sup>.

The main metabolic actions of WAT are classified into lipogenic and lipolytic activities. Lipogenic activity involves all metabolic processes that result in biosynthesis, incorporation and storage of triacylglycerols in the intracytoplasmic fat droplet. While the lipolytic activity concerns the hydrolysis of the stored TAG and the release of free fatty acids (FFA) and glycerol<sup>36</sup>.

For the lipogenesis process, there is a need for a glycerol 3-phosphate and FFA source complexed with coenzyme A (CoA), making up acetyl-CoA, derived from glycolytic pathway and biosynthesis from acetyl-CoA or FFL uptake, respectively. Once in the cytosol, the FFL binds to fatty acid-binding proteins (FABP), which transports it to coenzyme A. This process is performed by another integral membrane protein, acyl-CoA synthase (ACS). At the end of this stage, acyl-CoA is taken by another protein, the acyl-CoA-binding protein, to the glycerol 3-P esterification sites, finalizing the synthesis of TAG, which are transferred to the cytoplasmic fat droplet<sup>14</sup>.

About the lipolytic action, this is characterized by the hydrolysis of the stored triacylglycerol and consequent release of fatty acids and glycerol into the bloodstream. This process is dependent on the activation of the enzyme lipase hormone sensitive and stimulated by catecholamines, particularly in fasting situation, high energy demand, such as physical exercise, or under stress conditions. Thus, these catecholamines interact with  $\beta$ 3-adrenergic receptors, increasing free fatty acids in the bloodstream<sup>37</sup>.

Regarding the endocrine function of adipose tissue, it is emphasized that this plays a central role in the control of metabolism and interacts with different organs and systems, through substances and hormones that act stimulating actions such as adipogenesis, substrate secretion and metabolization site of steroid molecules<sup>38</sup>.

Another aspect that has been extensively investigated among the actions of adipose tissue, deals with its role in antimicrobial defense, wound healing and inflammation<sup>39</sup>. In this sense, we highlight the immune cells presented in adipose tissue include macrophages, neutrophils, dendritic cells, eosinophils, natural killer cells (NK) and innate lymphoid cells, as well as adaptive immunity cells such as B and T cells (CD4 and CD8) and regulatory cells T (TREG)<sup>40,41</sup>.

Macrophages are the most widely studied myeloid cells present in adipose tissue, and currently two phenotypes with distinct functions have been identified: classically activated macrophages (M1) and alternatively activated macrophages (M2). The M1 phenotype differs under the influence of pro-inflammatory cytokines and acts in the beginning and maintenance of inflammation by producing reactive oxygen and nitrogen species, nitric oxide synthase and pro-inflammatory cytokines such as TNF- $\alpha$ , interleukin 1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) and interleukin 6 (IL-6)<sup>42,43,44</sup>. The M2 phenotype, induced by anti-inflammatory cytokines such as IL-4, IL-10 and IL-13, act in the resolution of inflammation and tissue regeneration<sup>45,46,47</sup>.

In this sense, adipose tissue synthesizes and releases several adipokines, including interleukin-6 (IL-6), transforming growth factor- $\beta$  (TGF- $\beta$ ), adipins, angiotensinogen, plasminogen activator inhibitor-

1 (PAI-1), adiponectin, resistin, visfatin, leptin, and vascular endothelial growth factor (VEGF)<sup>48</sup>. These substances perform relevant physiological functions, such as the regulation of immune response, blood pressure control and glycemic homeostasis<sup>49,50</sup>.

### **3.6 Adipose Tissue Dysfunction and Metabolic Implications**

Adipose tissue has a safe threshold of expansion for fat storage, without development of dysfunction. However, in a situation of prolonged positive energy balance, the limit of expansion of adipocytes of subcutaneous adipose tissue is reached. From then on, lipids are stored in the visceral compartment and ectopic form in several organs in the body, mainly in the liver, heart, kidney, pancreas and muscles<sup>51</sup>.

In this perspective, it should be considered that the absolute fat mass is not the determining factor for the development of metabolic disorders in obese individuals, but rather the inability of the white adipose tissue to expand and adequately accommodate the energy surplus, since the hyperplasia process is limited and hypertrophy does not meet the high energy demand<sup>52,53</sup>. One of the mechanisms that explains the association between adipocyte hypertrophy and the manifestation of metabolic disorders, involves alterations in the process of angiogenesis, because the vascularization of these cells does not follow proportionally the increase in their size, which results in inadequate supply of oxygen and nutrients, favoring tissue dysfunction<sup>24</sup>.

The hypoxia in adipose tissue during its initial expansion induces stress signaling, which in turn facilitates angiogenesis through positive regulation of a number of genes, including VEGF<sup>54</sup>. However, continuous signaling via stress resulting from hypoxia reduces VEGF signaling, resulting in impairment of angiogenesis, which contributes to increased macrophage infiltration and chronic inflammation<sup>55</sup>.

Associated with this, the limited oxygen supply and excessive deposition of extracellular matrix components, such as collagen and osteopontin, also trigger adipocyte necrosis and low-grade chronic inflammation, being the latter characterized predominantly by infiltration of pro-inflammatory macrophages<sup>56,57</sup>. Hypoxia also

promotes positive regulation of hypoxia-inducible factor 1 $\alpha$  (HIF-1 $\alpha$ ), favoring adipose tissue fibrosis. It is worth mentioning that HIF-1 $\alpha$  is overexpressed in the adipose tissue of obese people and stimulates the attraction and retention of macrophages in adipocytes. Thus, in addition to contributing to physical restriction to adipose tissue expansion, excess deposition of the extracellular matrix can contribute to adipocyte death, tissue inflammation and metabolic dysfunction<sup>58,59</sup>.

A study on the subject found a lower amount of fibrosis in the visceral adipose tissue of diabetic individuals<sup>60</sup>. Similarly, Lackey et al. [60] found lower collagen content in the visceral adipose tissue of metabolically unhealthy obese patients when compared to metabolically healthy obese patients. Thus, fibrosis reduction seems to be associated with increased adipocyte hypertrophy, reduced preadipocyte hyperplasia, evidencing the role of extracellular matrix remodeling and fibrosis in tissue dysfunction<sup>54</sup>.

These events induce macrophage infiltration into obese adipose tissue through increased expression of both leptin and macrophage migration inhibition factor, which inhibits tissue macrophage emigration<sup>61,62</sup>. In addition, the supernutrition present in obesity stimulates the secretion of chemokines by adipocytes, such as the monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1), attracting monocytes to adipose tissue, which later differentiate into macrophages<sup>63</sup>.

The infiltration of macrophages in adipose tissue and the pro-inflammatory microenvironment installed in obesity leads to the alteration of the phenotype of these cells to type M1. These, in turn, accumulate around the hypoxic regions, forming "Crown-like Structures", producing pro-inflammatory cytokines, such as IL-6 and TNF $\alpha$ , which have a great impact on the insulin signaling cascade, in addition to contributing to local and systemic inflammation<sup>38,64</sup>.

It is important to point out that the polarization of macrophages to type M1 is also favored by the accumulation of lipids within these cells, since, in an attempt to reduce lipotoxicity, these cells phagocytize the triglyceride droplets, which results in the accumulation of lipids

within macrophages, transforming them into foamy cells that, in turn, secrete pro-inflammatory cytokines, such as IL-6<sup>65</sup>.

The chemokines and cytokines produced in adipose tissue are key regulators not only in the recruitment of macrophages, but also of other immune cells. With regard to T-lymphocytes, studies show that the CD8 fraction increases with the progression of obesity, while the CD4 and TREG fractions decrease. In addition, CD8 cell infiltration precedes macrophage accumulation in adipose tissue, while immunological depletion of these cells reduces the infiltration of M1 macrophages and the expression of inflammatory cytokines, indicating that these cells may be involved in the beginning and maintenance of the inflammatory cascade in obesity<sup>41,66</sup>.

It is worth noting that the abnormal polarization of macrophages for type M1 mediates metabolic changes in this tissue, and some studies indicate that the degree of visceral adiposity and the frequency of infiltrated macrophages in obese adipose tissue correlate significantly with the progress of atherosclerosis, insulin resistance and low-grade chronic inflammation<sup>67,68</sup>.

Neutrophils are also cells that stand out for their recruitment at places of acute inflammation in obese adipose tissue, being mediated by cytosolic phospholipase A2 $\alpha$ . These cells, in turn, produce elastases, a substance that can induce insulin resistance by degrading the insulin receptor substrate 1 in adipocytes and hepatocytes<sup>69,70</sup>. In addition, neutrophils also secrete myeloperoxidase, which contributes to systemic inflammation and tyrosine nitration, leading to a reduction in the levels of this protein and modification in the function of the insulin  $\beta$  receptor<sup>71</sup>. In this way, the recruitment of these cells contributes to the development of inflammation and insulin resistance in obese adipose tissue.

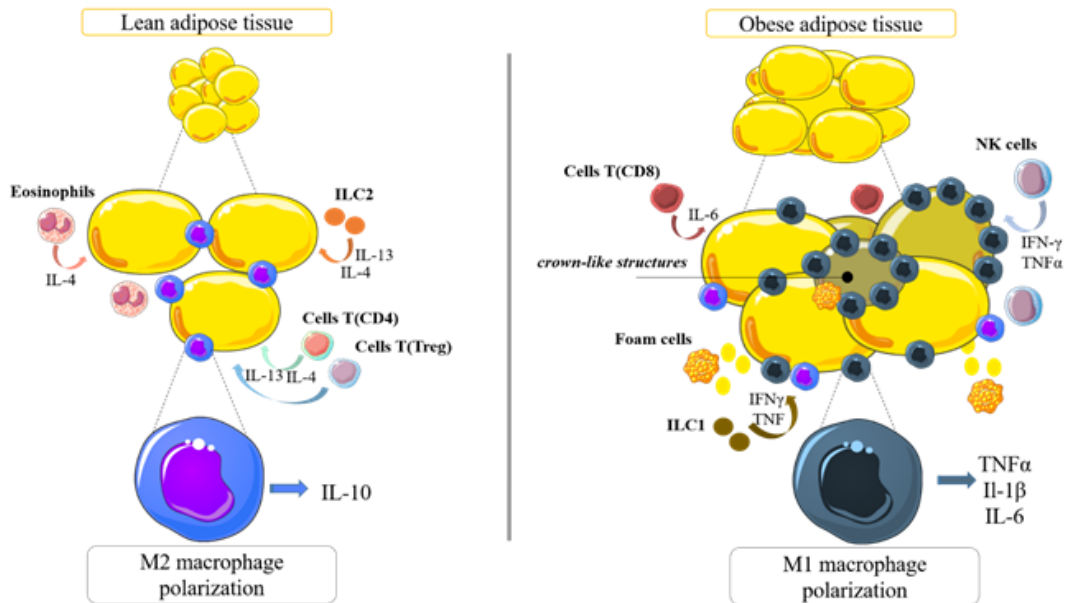
Differently, eosinophils are cells involved in the regulation of adipose tissue homeostasis, through the production of IL-4, a cytokine essential for the maintenance of M2 macrophages<sup>39</sup>. Recently, studies have shown that the number of eosinophils is linked to another population of immune cells called innate lymphoid cells (ILC). These

cells, in turn, are categorized into three subtypes: (i) ILC1, which are activated by IL-12, IL-15 and IL-18 and secrete interferon-gamma (IFN- $\gamma$ ) and TNF; (ii) ILC2, which are activated by IL-25 and IL-33 and express IL-4, IL-5 and IL-13, and (iii) ILC3 which are triggered by IL-1 $\beta$  and IL-23 and release IL-17 and IL-22<sup>72,73</sup>.

In this context, it was identified that the subtype ILC2 predominates in lean WAT and contributes to its homeostasis by maintaining the numbers of eosinophils and macrophages of type M2, since it secretes the cytokines IL-5 and IL-13. In obesity, the ILC1 subtype produces large amounts of IFN- $\gamma$ , thus contributing to the polarization of M1 macrophages and promoting obesity-related insulin resistance<sup>74</sup>.

Similar to the ILC1 subtype, NK, after activation by IL-12, IL-15 and IL-18, secrete cytokines and chemokines such as TNF, IFN- $\gamma$ , GM-CSF and CCL2 and promote the recruitment and activation of other immune cells at the place of inflammation. In this sense, several studies have observed an increase in the number of these cells in the adipose tissue and in the blood circulation of obese individuals or with type 2 diabetes mellitus, when compared to the control group, highlighting the harmful role of NK cells in obesity-related inflammation and metabolic dysregulation, as well as contributing to insulin resistance in obesity (Figure 2)<sup>75,76</sup>.





**Figure 2. Role of the immune system in lean versus obese adipose tissue.**

In lean adipose tissue, CD4-type helper T cells produce anti-inflammatory cytokines, such as interleukin (IL)-4 and 13, which promote macrophage polarization to type M2. M2 polarization is also induced by regulatory T cells (Tregs) and eosinophils via IL-4. M2 macrophages secrete other anti-inflammatory signals, such as IL-10, which maintain insulin sensitivity in lean adipose tissue. On the other hand, cytokines secreted by CD8-type T cells, such as IL-6, stimulate the polarization of M1-type macrophages in obese adipose tissue. Other immune cells are also higher in obese adipose tissue, which contribute to insulin resistance, including natural killer cells and ILC1. Furthermore, in obese adipose tissue, macrophages are not homogeneously distributed, but aggregated around dead adipocytes, forming crown-like structures. Foam cells are also present in order to phagocytose lipids from overloaded adipocytes. M1 macrophages are pro-inflammatory, secreting cytokines such as TNF- $\alpha$  and IL-1 $\beta$ , which perpetuates inflammation in obese adipose tissue and causes other metabolic disorders, such as insulin resistance.

Systemic oxidative stress constitutes another disorder present in the dysfunctional expansion of adipose tissue, due to an imbalance between reactive oxygen species production and antioxidant capacity, leading to disruption of redox signaling and control and/or molecular damage<sup>77</sup>. This disturbance can be classified according to intensity, ranging from physiological oxidative stress (eustress) to toxic oxidative

load (dysstress), which impairs redox signaling and promotes damage to biomolecules, with pathophysiological consequences<sup>78</sup>. About this disorder, several studies have already demonstrated that hypertrophy of adipocytes increases the secretion of pro-inflammatory cytokines and adipokines, the main contributing factor to the excessive production of reactive oxygen and nitrogen species in obese organisms<sup>79,80</sup>.

The accumulation of reactive species induces DNA damage, including point mutations and chromosomal aberrations, as well as activates signal translation pathways, altering the expression of several genes<sup>78</sup>. Chronicity of this process promotes peroxidation of membrane lipids and aggression to tissue proteins, contributing to the pathogenesis of several metabolic diseases<sup>81</sup>.

When adipocytes reach their expansion limit due to increased fat deposition, it disrupts metabolic homeostasis causing adipose inflammation and alterations in autophagy and ER functions (induced ER stress)<sup>82</sup>. Several factors alter ER functions, leading to metabolic dysfunction within the cell. One of the mechanisms is through, over accretion of fat in adipocytes, which disrupts normal ER activities, such as protein folding/maturation and lipid homeostasis. This, in turn, stresses the ER and activates numerous adaptive responses including unfolded protein responses (UPRs), ER-associated protein degradation (ERAD) as well as autophagy to reinstate metabolic homeostasis<sup>77,83</sup>.

The UPRs are primarily involved in maintaining metabolic stability by governing proper protein folding or degradation. Yet, continuous activation of UPRs in adipocytes is detrimental, coinciding with adipose dysfunction leading to obesity and its related comorbidities<sup>77,82</sup>. Uncontrolled ER stress in adipose tissue indeed could alter cellular functions, including lipid and glucose metabolism, inflammation, insulin signaling, and autophagy, disturbing the metabolic equilibrium of adipocytes<sup>83</sup>.

In this area, an important aspect that should be highlighted is the effect of interventions for weight loss, for example bariatric surgery and low-calorie diets in reducing the number of circulating immune cells in

adipose tissue that implies the attenuation of local and systemic inflammation<sup>84,85</sup>.

### **3.7 Insulin Resistance and Dyslipidemia**

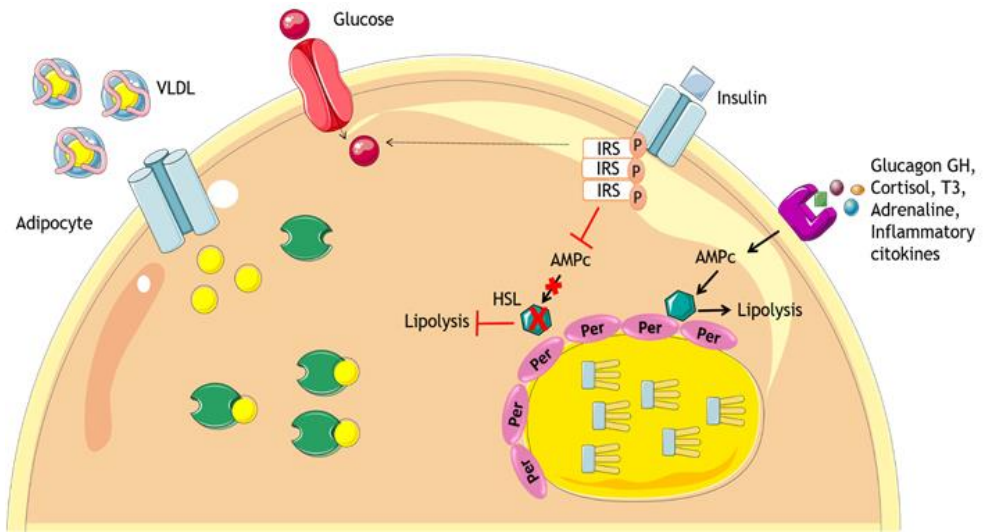
Regarding the impact of adipose tissue dysfunction on glycemic control and dyslipidemias, the influence of body fat distribution on changes in glucose metabolism and dyslipidemias stands out, large visceral fat cells are more strongly linked to disorders in lipid metabolism, while large subcutaneous adipose cells correlate with hyperinsulinemia and insulin resistance (Figure. 3)<sup>24,86</sup>.

Regarding the contribution of adipose tissue dysfunction to insulin resistance, it is worth noting that, in situations where positive energy balance is associated with dysfunction of subcutaneous adipose tissue, there is an increase of basal lipolysis in hypertrophic adipocytes, favoring the release of non-esterified fatty acids (NEFA) into the bloodstream. This process triggers multiple inflammatory signaling pathways in macrophages and adipocytes, as NEFA may promote inflammation by binding to Toll-like 2 and 4 receptors through the Adaptive Protein Fetuin-A (FetA), which results in the activation of Nuclear Factor Kappa B (NF- $\kappa$ B)<sup>87</sup>.

Inflammation favors the manifestation of insulin resistance via activation mechanisms of NF- $\kappa$ B transcription factor signaling. In this sense, adipose tissue dysfunction activates the IKK kinase complex, favoring proteasomal degradation of I $\kappa$ B $\alpha$ , which induces nuclear translocation of NF- $\kappa$ B, which consequently increases the expression of target genes of this transcription factor, such as IL-6, TNF- $\alpha$ , transforming growth factor beta (TGF- $\beta$ ) and receptor for advanced glycosylation end product, important molecules in the induction of insulin resistance<sup>88,89</sup>.

The ectopic fat deposition is also an important factor in reducing local and systemic insulin sensitivity, and the accumulation of diacylglycerides in hepatocytes activates protein kinase C (PKC), which reduces insulin-stimulated phosphorylation of (Insulin receptor substrate 2) IRS-2 and AKT serine/threonine kinase 2 (AKT2), as well as the ability to activate glycogen synthesis<sup>90,91</sup>. Thus, the ectopic

accumulation of fat in the liver results in a reduction of glucose uptake and increased production of this substrate, which consequently potentiates insulin resistance<sup>88, 89</sup>.



**Figure. 3 Mechanisms of lipid storage in adipocytes and their mobilization from lipid droplets.**

Lipolysis is inhibited by insulin signaling and promoted by other hormones like glucagon, GH, cortisol, T3, or adrenaline, due to the stimulation of AMPc and HSL. cAMP: Cyclic adenosine monophosphate; FATP: Fatty acid binding protein; FFA: Free fatty acids; HSL: Hormone-sensitive lipase; IRS-1: Insulin receptor substrate-1; LPL: Lipoprotein lipase; PerA: Perilipin A; VLDL: Very-low density lipoprotein.

The ectopic accumulation of diacylglycerols and ceramides in muscle tissue also activates PKC, favoring the phosphorylation of IRS1 in serine residues impairing the activation of PI3K, with consequent reduction of glucose transporter activity (GLUT4) and glucose uptake<sup>88</sup>. Ectopic lipid deposition in the heart results in a form of "cardiac lipotoxicity" characterized by cardiac insulin resistance, cardiac myocyte apoptosis and contractile dysfunction, for the reason

that diacylglycerols can also activate various PKC isoforms, involved in the development of insulin resistance<sup>89</sup>.

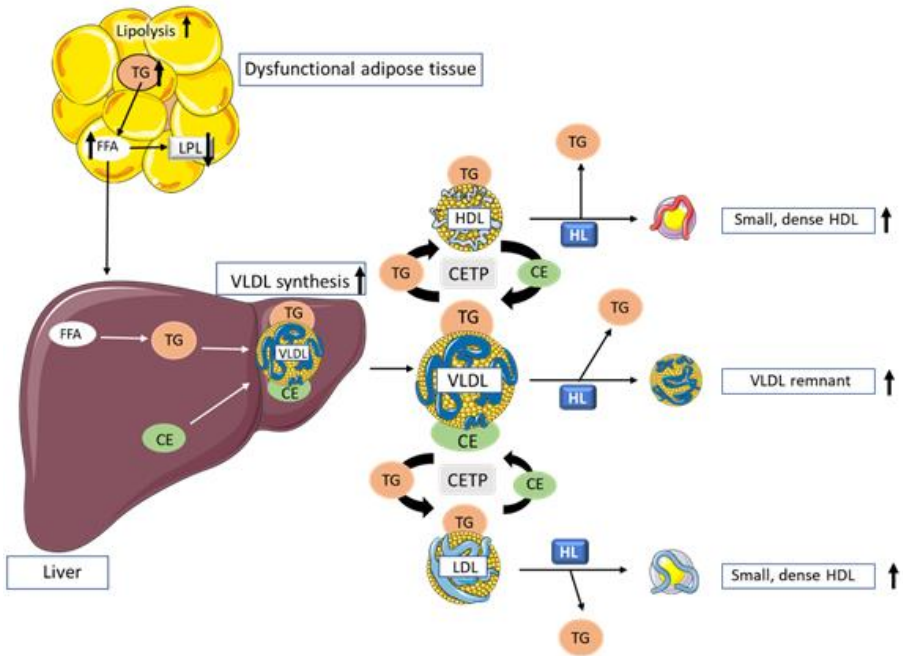
Regarding dyslipidemia associated with adipose tissue dysfunction, changes in the performance of important enzymes stand out, such as the increased activity of hormone-sensitive lipase, as well as the inhibition of lipoprotein lipase, which contributes to promoting the flow of free fatty acids to hepatocytes, which increases the synthesis of very-low-density lipoproteins (VLDL-c), and consequently hypertriglyceridemia<sup>92</sup>.

The excess of triglycerides in the bloodstream induces a reduction in the activity of lecithin cholesterol acyl transferase, an important substrate in the synthesis of high-density lipoproteins (HDL-c) and phospholipid transport protein, being the latter responsible for the transfer of triglyceride-rich lipoprotein phospholipids to HDL-c. This metabolic dysfunction implies the impairment of the maturation of HDL-c lipoprotein and consequently its role in the reverse transport of cholesterol<sup>90</sup>.

Associated with this, hypertriglyceridemia also accentuates the activity of cholesterol ester transfer protein, an enzyme that acts on the exchange of cholesterol esters and triglyceride between lipoproteins and, as a consequence, with formation of LDL-c and HDL-c particles with low cholesterol concentrations and rich in triglyceride<sup>93,94</sup>.

In this regard, it is worth noting that the high serum concentration of LDL-c and HDL-c particles rich in triglycerides stimulates the activity of the enzyme hepatic lipase to release apoprotein apoA-I from the HDL-c particle, forming remnants of HDL-c, these being possibly eliminated by bile, reducing their serum concentration. Thus, as a result of the reduced HDL-c values associated

with the formation of small and dense LDL-c particles, there is a higher risk for the development of cardiovascular disease (Figure. 4)<sup>95</sup>.



**Figure. 4 Development of dyslipidemia in obesity.**

In dysfunctional adipose tissue there is an increase in lipolysis and, consequently, a higher concentration of triglycerides and free fatty acids, which contribute to a lower activity of lipoprotein lipase. There is then an increased release of free fatty acids from the adipose tissue to the liver, which leads to greater production of VLDL-c in this tissue, thus promoting hypertriglyceridemia. The triglyceride present in the VLDL-c structure is exchanged for low-density lipoprotein (LDL) cholesterol esters and high-density lipoprotein (HDL) cholesterol esters for the esterified cholesterol transport protein, producing triglyceride-rich LDL and HDL. Triglycerides in these lipoproteins are hydrolyzed by hepatic lipase, producing small, dense LDL and HDL. Decreased HDL concentration and the formation of small, dense LDL particles are associated with an increased risk of cardiovascular disease. EC: Cholesterol esters; CETP: Esterified cholesterol transport protein; FFA: Free fatty acids; HDL: High density lipoproteins; HL: Hepatic lipase; LDL: Low-density lipoproteins; LPL: Lipoprotein lipase; TG: Triglyceride; VLDL: Very low density lipoprotein. hepatic lipase.

In this scenario, based on the information obtained on the subject, it is verified that the literature clearly brings the various mechanisms involved in the dysfunction of adipose tissue, as well as its impact on the development of important disorders associated with obesity. Associated with this, it is highlighted that such dysfunction can be achieved in different degrees of adiposity and is not necessarily related to total adipose mass, which allows its classification into different phenotypes, such as metabolically healthy and unhealthy obesity.

### **3.8 Conclusions**

The data presented in this review emphasize the function, growth, and expansion of human adipose tissue, along with the development of complications associated with dysfunction of this tissue, including inflammation, accumulation of ectopic fat, insulin resistance, and dyslipidemia.

The limited storage capacity of excess lipids in adipose tissue favors the development of metabolic disorders associated with obesity. Thus, it is essential to advance the understanding of the molecular mechanisms involved in adipose tissue dysfunction in order to mitigate the negative metabolic consequences of obesity.

### 3.9 References

1. Murawska-Ciałowicz, E. Adipose tissue - morphological and biochemical characteristic of different depots. *Postepy Hig Med Dosw*, **8**, 466-484 (2017).
2. Chait, A.; Hartigh, L. J. Adipose tissue distribution, inflammation and its metabolic consequences, including diabetes and cardiovascular disease. *Front Cardiovasc.*, **7**, 22-32 (2020).
3. Bartelt, A., Heeren, J. Adipose tissue browning and metabolic health. *Nat Rev Endocrinol.*, **10**, 24-36 (2014).
4. Czech, M. P. Mechanisms of insulin resistance related to white, beige, and brown adipocytes. *Mol Metab.*; **34**, 27-42 (2020).
5. Sakers, A., De Siqueira, M. K., Seale, P., Villanueva, C. J. Adipose-tissue plasticity in health and disease. *Cell.*, **185**, 419-446 (2022).
6. Tilg, H., Moschen, A. R. Adipocytokines: mediators linking adipose tissue, inflammation, and immunity. *Nature Reviews Immunology*, **6**, 772-783 (2006).
7. Bray, G. A et al. The Science of Obesity Management: An Endocrine Society Scientific Statement. *Endocr Rev.*, **39**, 79-132 (2018),
8. Lee, M. W., Lee, M., Oh, K. J. Adipose tissue-derived signatures for obesity and type 2 diabetes: adipokines, batokines and microRNAs. *J Clin Med.*, **8**, 854 (2019).
9. Mittal, B. Subcutaneous adipose tissue & visceral adipose tissue. *Indian J Med Res.*, **149**, 571-573 (2019).
10. Vishvanath, L., Gupta, R. K. Contribution of adipogenesis to healthy adipose tissue expansion in obesity. *J Clin Invest.*, **129**, 4022-4031 (2019).



11. Ghezzi, A. C. Modulation of macrophage infiltration in brown adipose tissue and white adipose tissue of obese rats: effects of treatment of GLP-1 analogue, DPP-4 inhibitor and physical exercise. *PhD Thesis*, Faculdade Estadual de Campinas (2017).
12. Silva, N. S. B., Castro, C.F.B. O papel das adipocitocinas leptina e adiponectina no desenvolvimento da obesidade. *REBES.*, **9**, 70-76 (2019)
13. Silva, N. I. Adipocinas e sua relação com a obesidade. *Revista EVS.*, **46**, 53-64 (2019).
14. Becher, T. et al. Brown adipose tissue is associated with cardiometabolic health. *Nature Medicine.*, **27**, 58-65 (2021).
15. Sanchez-Gurmaches, J., & Guertin, D. A. Adipocytes arise from multiple lineages that are heterogeneously and dynamically distributed. *Nat Commun.*, **5**, 4099 (2014).
16. Shireesh, S., & Veech, R. L. The Fat Soldiers in the Anti-obesity Fight. *Front Physiol.*, **10**, 38 (2019).
17. Ghaben, A. L., & Scherer, P. E. Adipogenesis and metabolic health. *Nat Rev Mol Cell Biol.*, **20**, 242-258 (2019).
18. Parrentini, S et al. Adipokines: A Rainbow of Proteins with Metabolic and Endocrine Functions. *Protein Pept Lett.*, **27**, 1204-1230 (2020).
19. Guha, D., Mukherjee, R., Ainch, P. O macrófago desempenha um papel importante na adipogênese induzida pelo cortisol e serotonina in vitro. *In Vitro Cell Dev Biol Anim.*, **56**, 511-521 (2020).
20. Martus-Rus, C et al. Macrophage and adipocyte interaction as a source of inflammation in kidney disease. *Sci Rep.*, **11**, 2974 (2021).

21. Sárvári, A. K et al. Plasticity of epididymal adipose tissue in response to diet-induced obesity at single-nucleus resolution. *Cell Metab.*, **33**, 437-453 (2021).
22. He, Y et al. Human adipose liquid extract induces angiogenesis and adipogenesis: a novel cell-free therapeutic agent. *Stem Cell Res Ther.*, **10**, 1-14 (2019).
23. Torres-Perez, E et al. The FAT expandability (FATe) Project: Biomarkers to determine the limit of expansion and the complications of obesity. *Cardiovasc Diabetol.*, **14**, 40 (2015).
24. Hammarstedt, A et al. Impaired adipogenesis and dysfunctional adipose tissue in human hypertrophic obesity. *Physiol Ver.*, **98**, 1911-1941 (2018).
25. Pellegrinelli, V., Carobbio, S., Vidal-Puig, A. Adipose tissue plasticity: how fat depots respond differently to pathophysiological cues. *Diabetologia.*, **59**, 1075-1088 (2016).
26. Bruning, U et al. O comprometimento da angiogênese pela inibição da ácido graxo sintase envolve a malonilação de mTOR. *Metab Cell.*, **28**, 866-880 (2018).
27. Viallard, C, & Larrivé, B. Tumor angiogenesis and vascular normalization: alternative therapeutic targets. *Angiogenesis.*, **20**, 409-426 (2017).
28. Cao, Y. Angiogenesis modulates adipogenesis and obesity. *J Clin Invest.*, **117**, 2362-2368 (2007).
29. Matulewicz, N. et al. Markers of Adipogenesis, but Not Inflammation, in Adipose Tissue Are Independently Related to Insulin Sensitivity. *J Clin Endocrinol Metab.*, **102**, 3040-3049 (2017).

30. Ruiz-Ojeda, F.J et al. Extracellular Matrix Remodeling of Adipose Tissue in Obesity and Metabolic Diseases. *Int J Mol Sci.*, **20**, 4888 (2019).
31. Corrêa, L. H., Heyn, G. S., Magalhaes, K. G. The impact of the adipose organ plasticity on inflammation and cancer progression. *Cells.*, **8**, 662 9 (2019).
32. Schoettl, T., Fischer, I. P., Ussar, S. Heterogeneity of adipose tissue in development and metabolic function. *J Exp Biol.*, **221**, jeb162958 (2018).
33. Yu-Kyoung, P., & Byeong-Churl, J. Cryptotanshinone Inhibits Lipid Accumulation in Differentiating 3T3-L1 Preadipocytes by Down-regulating C/EBP- $\alpha$ , PPAR- $\gamma$ , FAS, Perilipin A, and STAT-3. *Keimyung Med J.*, **40**, 1-10 (2019).
34. Sztalryd, C., & Brasaemle, D. L. The perilipin family of lipid droplet proteins: Gatekeepers of intracellular lipolysis. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Biol Lipids.*, **1862**, 1221-1232 (2017).
35. Illesca, P. et al. Hydroxytyrosol supplementation ameliorates the metabolic disturbances in white adipose tissue from mice fed a high-fat diet through recovery of transcription factors Nrf2, SREBP-1c, PPAR- $\gamma$  and NF- $\kappa$ B. *Biomed Pharmacother.*, **109**, 2472-2481 (2019).
36. Morigny, P., et al. Interaction between hormone-sensitive lipase and ChREBP in fat cells controls insulin sensitivity. *Nat Metab.*, **1**, 133-146 (2019).
37. Maximus, P. S et al. Adipocytokines: Are they the Theory of Everything? *Cytokine.*, **133**, 155144 (2020).

38. Exley, M. A et al. Interplay between the immune system and adipose tissue in obesity. *J Endocrinol.*, **223**, R41-R48 (2014)
39. Chung, K. J et al. Innate immune cells in the adipose tissue. *Rev Endocr Metab Disord.*, **19**, 283-292 (2018).
40. McLaughlin, T et al. Preferential fat deposition in subcutaneous versus visceral depots is associated with insulin sensitivity. *J Clin Endocrinol Metab.*, **96**, E1756-E1760 (2011).
41. Li, C., et al. Macrophage polarization and meta-inflammation. *Transl Res.*, **191**, 29-44 (2018).
42. Mescher, A. L. Macrophages and fibroblasts during inflammation and tissue repair in models of organ regeneration. *Regeneration.*, **4**, 39-53 (2017).
43. Remmerie, A., Martens, L., Scott, C. L. Macrophage subsets in obesity, aligning the liver and adipose tissue. *Front Endocrinol.*, **11**, 259 (2020)
44. Chistiakov, D. A. et al. The impact of interferon-regulatory factors to macrophage differentiation and polarization into M1 and M2. *Immunobiology.*, **223**, 101-111 (2018).
45. Hume, D. A. The Many Alternative Faces of Macrophage Activation. *Front Immunol.*, **22**, 370 (2015).
46. Saha, S., Shalova, I. N., Biswas, S. K. Metabolic regulation of macrophage phenotype and function. *Immunol Ver.*, **280**, 102-111 (2017).
47. Villarroya, F. et al. Inflammation of brown/beige adipose tissues in obesity and metabolic disease. *J Intern Med.*, **284**, 492-504 (2018).

48. Gomes, B. F., & Accardo, C. M. Mediadores imunoinflamatórios na patogênese do diabetes mellitus. *Einstein.*, **17**, eRB4596 (2019).
49. Silva-Jr, A. J. Adipocinas: A relação endócrina entre obesidade e diabetes tipo II. *RBONE.*, **11**, 135-145 (2017).
50. Cuthbertson, D. J et al. What have human experimental overfeeding studies taught us about adipose tissue expansion and susceptibility to obesity and metabolic complications? *Int J Obes.*, **41**, 853-865 (2017).
51. Caprio, S., Pierpont, B., Kursawe R. The “adipose tissue expandability” hypothesis: a potential mechanism for insulin resistance in obese youth. *Horm Mol Biol Clin Investig.*, **33**, 20180005 (2018).
52. Carobbio, S., Pellegrinelli, V., Vidal-Puig, A. Adipose Tissue Function and Expandability as Determinants of Lipotoxicity and the Metabolic Syndrome. *Adv Exp Med Biol.*, 960, 161-196 (2017)
53. Lempeis, I. G et al. Oxygenation of adipose tissue: A human perspective. *Acta Physiol.*, **228**, e13298 (2020).
54. Crewe, C., Na, Y. A., Scherer, P.E. The ominous triad of adipose tissue dysfunction: inflammation, fibrosis, and impaired angiogenesis. *J Clin Invest.*, **127**, 74-82 (2017).
55. Zhang, J et al. HMGB1, an innate alarmin, plays a critical role in chronic inflammation of adipose tissue in obesity. *Mol Cell Endocrinol.*, **454**, 103-111 (2017).
56. Torres, S et al. Adipose tissue inflammation and metabolic syndrome. The proactive role of probiotics. *Eur J Nutr.*, **58**, 27-43 (2019).

57. Lin, D., Chun, T. H., Kang, L. Adipose extracellular matrix remodelling in obesity and insulin resistance. *Biochem Pharmacol.*, **119**, 8-16 (2016).
58. Lawler, H. M et al. Adipose Tissue Hypoxia, Inflammation, and Fibrosis in Obese Insulin-Sensitive and Obese Insulin-Resistant Subjects. *J Clin Endocrinol Metab.*, **101**, 1422-1428 (2016).
59. Muir, L. A et al. Adipose tissue fibrosis, hypertrophy, and hyperplasia: Correlations with diabetes in human obesity. *Obesity.*, **24**, 597-605 (2016).
60. Lackey, D. E et al. Contributions of adipose tissue architectural and tensile properties toward defining healthy and unhealthy obesity. *Am J Physiol Endocrinol Metab.*, **306**, E233-E246 (2014).
61. Ye, J. Emerging role of adipose tissue hypoxia in obesity and insulin resistance. *Int J Obes.*, **33**, 54-66 (2009).
62. Wang, B., Wood, I. S., Trayhurn, P. Hypoxia induces leptin gene expression and secretion in human preadipocytes: differential effects of hypoxia on adipokine expression by preadipocytes. *J Endocrinol.*, **198**, 127-34 (2008).
63. Patel, P. S., Buras, E.D., Balasubramanyam, A. The role of the immune system in obesity and insulin resistance. *J Obes.*, **2013**, 616193 (2013).
64. Lauterbach, M. A., Wunderlich, F. T. Macrophage function in obesity-induced inflammation and insulin resistance. *Pflugers Arch.*, **469**, 385-396 (2017).
65. Russo, L., Lumeng, C. N. Properties and functions of adipose tissue macrophages in obesity. *Immunology.*, **155**, 407-417 (2018).

66. Nishimura, S et al. CD8+ effector T cells contribute to macrophage recruitment and adipose tissue inflammation in obesity. *Nat Med.*, **15**, 914-920 (2009).
67. Alexopoulos N, Katritsis D, Raggi P. Visceral adipose tissue as a source of inflammation and promoter of atherosclerosis. *Atherosclerosis.*, **233**, 104-112 (2014).
68. Lovren, F., Teoh, H., Verma, S. Obesity and atherosclerosis: mechanistic insights. *Can J Cardiol.*, **31**, 177-183 (2015).
69. Mansuy-Aubert, V et al. Imbalance between neutrophil elastase and its inhibitor alpha1-antitrypsin in obesity alters insulin sensitivity, inflammation, and energy expenditure. *Cell Metab.*, **17**, 534-548 (2013).
70. Talukdar, S. et al. Neutrophils mediate insulin resistance in mice fed a high-fat diet through secreted elastase. *Nat Med.*, **18**, 1407-1412 (2012).
71. Strzepa, A., Pritchard, K. A., Dittel, B. N. Myeloperoxidase: a new player in autoimmunity. *Cell Immunol.*, **317**, 1-8 (2017).
72. Eberl, G et al. Innate lymphoid cells. Innate lymphoid cells: a new paradigm in immunology. *Science.*, **348**, aaa6566 (2015).
73. Robinette, M. L et al. Transcriptional programs define molecular characteristics of innate lymphoid cell classes and subsets. *Nat Immunol.*, **16**, 306-317 (2015).
74. O'Sullivan, T. E et al. Adipose-resident group 1 innate lymphoid cells promote obesity-associated insulin resistance. *Immunity.*, **45**, 428-441 (2016).
75. Ballesteros-Pomar, M. D et al. Inflammatory status is different in relationship to insulin resistance in severely obese people and

- changes after bariatric surgery or diet-induced weight loss. *Exp Clin Endocrinol Diabetes.*, **122**, 592-596 (2014).
76. Simar, D et al. DNA methylation is altered in B and NK lymphocytes in obese and type 2 diabetic human. *Metabolism.*, **63**, 1188-1197 (2014).
  77. Bartelt, A et al. Brown adipose tissue thermogenic adaptation requires Nrf1-mediated proteasomal activity. *Nat Med.*, **24**, 292-303 (2018).
  78. Matoušková, P., Hanousková, B., Skálová, L. MicroRNAs as Potential Regulators of Glutathione Peroxidases Expression and Their Role in Obesity and Related Pathologies. *Int J Mol Sci.*, **4**, 1199 (2018).
  79. Fernández-Sánchez, A et al. Inflammation, oxidative stress, and obesity. *Int J Mol Sci.*, **12**, 3117-32 (2011).
  80. Le Lay, S et al. Oxidative stress and metabolic pathologies: from an adipocentric point of view. *Oxid Med Cell Longev.*, **2014**, 908539 (2014).
  81. Tan, B. L et al. Antioxidant and Oxidative Stress: A Mutual Interplay in Age-Related Diseases. *Front Pharmacol.*, **16**, 1162 (2018).
  82. Kalhara, R et al. Mechanisms linking endoplasmic reticulum (ER) stress and microRNAs to adipose tissue dysfunction in obesity. *Crit Rev Biochem Mol Biol.*, **56**, 455-481 (2021).
  83. Ghemrawi, R., Battaglia-Hsu., S. F., Arnold, C. Endoplasmic reticulum stress in metabolic disorders. *Cells.*, **7**, 63 (2018).



84. Lee, B. C et al. Adipose natural killer cells regulate adipose tissue macrophages to promote insulin resistance in obesity. *Cell Metab.*, **23**, 685-698 (2016).
85. Wensveen, F. M et al. NK cells link obesity-induced adipose stress to inflammation and insulin resistance. *Nat Immunol*, **16**, 376-385 (2015).
86. Kim, J. I et al. Lipid-overloaded enlarged adipocytes provoke insulin resistance independent of inflammation. *Mol Cell Biol.*, **35**, 1686-1699 (2015).
87. Longo, M et al. Adipose tissue dysfunction as determinant of obesity-associated metabolic complications. *Int J Mol Sci.*, **20**, 2358 (2019).
88. Castoldi, A et al. The Macrophage Switch in Obesity Development. *Front Immunol.*, **6**, 637 (2015).
89. Kilicarslan M, Weijer BA, Sjödín KS et al. RBP<sub>4</sub> increases lipolysis in human adipocytes and is associated with increased lipolysis and hepatic insulin resistance in obese women. *FASEB J.*, **34**, 6099-611 (2020).
90. Yang, A. & Motillo, E. P. Adipocyte lipolysis: from molecular mechanisms of regulation to disease and therapeutics. *Biochem J.*, **477**, 985-1008 (2020).
91. Britton, K. A. & Fox, C. S. Ectopic fat depots and cardiovascular disease. *Circulation.*, **124**, e837-e841 (2011).
92. Sousa, M. P et al. Associação entre Ingestão Dietética de Magnésio e Parâmetros do Perfil Lipídico em Mulheres Obesas. *Res Soc Dev.*, **9**, e53911592 (2019).

93. Vekic, J et al. Obesity and Dyslipidemia. *Metabolism.*, 92, 71-81 (2019).
94. Zhang, T et al. Interaction between adipocytes and high-density lipoprotein:new insights into the mechanism of obesity-induced dyslipidemia and atherosclerosis. *Lipids Health Dis.*, **18**, 223 (2019).
95. Jung, U. J. & Choi, M. S. Obesity and its metabolic complications: the role of adipokines and the relationship between obesity, inflammation, insulin resistance, dyslipidemia and nonalcoholic fatty liver disease. *Int J Mol Sci.*, **15**, 6184-223 (2014).

## Capítulo 4: Association Between Cortisol, Insulin Resistance and Zinc n Obesity: A Mini-Review

**Periódico:** Biological Trace Element Research

**Qualis:** A3


**Fator de impacto:** 4.081

**Scopus Cite score 2022:** 5





## Association Between Cortisol, Insulin Resistance and Zinc in Obesity: a Mini-Review

Jennifer Beatriz Silva Morais<sup>1</sup> · Juliana Soares Severo<sup>1</sup> · Jéssica Batista Beserra<sup>1</sup> · Ana Raquel Soares de Oliveira<sup>1</sup> · Kyria Jayanne Climaco Cruz<sup>1</sup> · Stéfany Rodrigues de Sousa Melo<sup>1</sup> · Ginivaldo Victor Ribeiro do Nascimento<sup>2</sup> · George Fred Soares de Macedo<sup>3</sup> · Dilina do Nascimento Marreiro<sup>1</sup> 

Received: 16 August 2018 / Accepted: 27 December 2018  
© Springer Science+Business Media, LLC, part of Springer Nature 2019

### Abstract

Adipose tissue is considered an endocrine organ and its excess compromises the immune response and the metabolism of hormones and nutrients. Furthermore, visceral fat accumulation contributes to increased cortisol synthesis, which in turn induces metallothionein and Zip14 expression, which are proteins that contribute to reducing plasma zinc levels. Zinc plays a critical role in the secretion and signaling of insulin. Changes in the biochemical parameters of zinc, as observed in individuals who are obese, contribute to the manifestation of related disorders such as insulin resistance. Thus, the purpose of this review is to provide an update on the current information on the relationship between cortisol, zinc, and insulin resistance in obesity. The data in the literature provide evidence that cortisol affects zinc metabolism, and indicate possible repercussions on insulin signaling that might contribute to the development of resistance to the actions of insulin in obesity.

**Keywords** Zinc · Cortisol · Insulin resistance · Obesity · Metabolism

### Introduction

Obesity is defined as the accumulation of excessive body fat that can impair health and increase mortality [1]. This disease increases the risk of development of several comorbidities such as type 2 diabetes mellitus, cardiovascular diseases, and cancer [2–4]. In the pathogenesis of obesity, certain aspects that are considered important because they contribute to the manifestation of comorbidities are highlighted such as hormonal and metabolic disorders including oxidative stress, chronic low-grade inflammation, and insulin resistance [5, 6].

Recently, there has been a growing interest in hormonal disorders associated with obesity. Furthermore, related studies have demonstrated alterations in cortisol metabolism, which presents changes in its secretion and action in obese individuals [7, 8]. Deregulation of the hypothalamic adrenal-pituitary axis contributes to its hyperresponsiveness, increasing cortisol

secretion, which is a risk factor for various metabolic disorders [9, 10].

Cortisol is an important regulator of endocrine function, metabolism, and differentiation of adipocytes, contributing to adipogenesis and increased visceral fat stores [10–12]. In addition, this glucocorticoid plays a significant role in the signaling pathway of insulin, since it impairs insulin sensitivity in several tissues, consequently reducing glucose uptake and contributing to insulin resistance [7].

Another important point to be highlighted on endocrine regulation by cortisol is its effects on the metabolism of micronutrients such as zinc. Cortisol induces the gene expression of metallothionein and the zinc transporter Zip14, which favors the redistribution of plasma zinc for various tissues such as hepatic and adipose, leading to the development of hypozincemia in obesity [12, 13].

Furthermore, the fundamental role of zinc has been highlighted in the synthesis, storage, and action of insulin by stimulating its receptors, which protects the liver and pancreatic cells against free radicals. In addition, as a nutrient with an important function in insulin sensitivity, zinc participates in the stabilization of insulin hexamers [14].

Cortisol affects the distribution of zinc in individuals who are obese, which may consequently be a contributing factor to compromising the action of insulin; however, the data in the

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

<sup>1</sup> Department of Nutrition, Health Sciences Center, Federal University of Piauí, Teresina, Piauí, Brazil

<sup>2</sup> State University of Piauí, Teresina, Piauí, Brazil

<sup>3</sup> Hospital Gastrovita, Teresina, Piauí, Brazil

## **4 ASSOCIATION BETWEEN CORTISOL, INSULIN RESISTANCE AND ZINC IN OBESITY: A MINI-REVIEW**

Este capítulo apresenta o artigo científico: Morais JBS, Severo JS, Beserra JB, de Oiveira ARS, Cruz KJC, de Sousa Melo SR, do Nascimento GVR, de Macedo GFS, do Nascimento Marreiro D. Association Between Cortisol, Insulin Resistance and Zinc in Obesity: a Mini-Review. *Biological Trace Element Research*. 2019 Oct;191(2):323-330. doi: 10.1007/s12011-018-1629-y

### **4.1 Abstract**

Adipose tissue is considered an endocrine organ and its excess compromises the immune response and the metabolism of hormones and nutrients. Furthermore, visceral fat accumulation contributes to increased cortisol synthesis, which in turn induces metallothionein and Zip14 expression, which are proteins that contribute to reducing plasma zinc levels. Zinc plays a critical role in the secretion and signaling of insulin. Changes in the biochemical parameters of zinc, as observed in individuals who are obese, contribute to the manifestation of related disorders such as insulin resistance. Thus, the purpose of this review is to provide an update on the current information on the relationship between cortisol, zinc, and insulin resistance in obesity. The data in the literature provide evidence that cortisol affects zinc metabolism, and indicate possible repercussions on insulin signaling that might contribute to the development of resistance to the actions of insulin in obesity.

**Keywords:** Zinc; Cortisol; Insulin resistance; Obesity; Metabolism

## 4.2 Introduction

Obesity is defined as the accumulation of excessive body fat that can impair health and increase mortality<sup>1</sup>. This disease increases the risk of development of several comorbidities such as type 2 diabetes mellitus, cardiovascular diseases, and cancer<sup>2,4</sup>. In the pathogenesis of obesity, certain aspects that are considered important because they contribute to the manifestation of comorbidities are highlighted such as hormonal and metabolic disorders including oxidative stress, chronic low-grade inflammation, and insulin resistance<sup>5,6</sup>.

Recently, there has been a growing interest in hormonal disorders associated with obesity. Furthermore, related studies have demonstrated alterations in cortisol metabolism, which presents changes in its secretion and action in obese individuals<sup>7,8</sup>. Deregulation of the hypothalamic adrenal-pituitary axis contributes to its hyperresponsiveness, increasing cortisol secretion, which is a risk factor for various metabolic disorders<sup>9,10</sup>.

Cortisol is an important regulator of endocrine function, metabolism, and differentiation of adipocytes, contributing to adipogenesis and increased visceral fat stores<sup>10-12</sup>. In addition, this glucocorticoid plays a significant role in the signaling pathway of insulin, since it impairs insulin sensitivity in several tissues, consequently reducing glucose uptake and contributing to insulin resistance<sup>7</sup>.

Another important point to be highlighted on endocrine regulation by cortisol is its effects on the metabolism of micronutrients such as zinc. Cortisol induces the gene expression of metallothionein and the zinc transporter Zip14, which favors the redistribution of plasma zinc for various tissues such as hepatic and adipose, leading to the development of hypozincemia in obesity<sup>12,13</sup>.

Furthermore, the fundamental role of zinc has been highlighted in the synthesis, storage, and action of insulin by stimulating its receptors, which protects the liver and pancreatic cells against free

radicals. In addition, as a nutrient with an important function in insulin sensitivity, zinc participates in the stabilization of insulin hexamers<sup>14</sup>.

Cortisol affects the distribution of zinc in individuals who are obese, which may consequently be a contributing factor to compromising the action of insulin; however, the data in the literature on this subject is inconsistent. Therefore, there is a need for studies that provide evidence of the association between these markers and the mechanisms that mediate this interaction.

This review summarizes the mechanisms involved in the role of cortisol in the development of insulin resistance and zinc involvement as a key micronutrient in obesity metabolic change.

### **4.3 Obesity, Insulin Resistance, and Cortisol**

The adipose tissue secretes hormones and signaling molecules with biological effects on metabolism and inflammation. In obesity, the expansion of adipose tissue leads to its dysfunction, which is characterized by changes in the cellular composition (hypertrophy of adipocytes and infiltration of immune cells), hypoxia, oxidative stress, and increased secretion of inflammatory adipokines<sup>4,15</sup>.

It is worth mentioning that adipose tissue dysfunction favors the development of metabolic and endocrine disorders, associated with changes in serum concentrations, patterns of secretion, and action of various hormones<sup>10,16</sup>. In this regard, studies have evidenced the anti-inflammatory and immunosuppressive role of glucocorticoids, which in normal concentrations inhibit the secretion of inflammatory cytokines, such as TNF- $\alpha$  and IL-6<sup>17</sup>. However, the excess of these hormones, particularly cortisol, exacerbates chronic inflammatory condition of obesity.

It is worth mentioning that adipokines can act in the central nervous system through receptors for IL-1 and IL-6 cytokines in the brain, especially in the hypothalamic region. The interaction of these cytokines with specific receptors in hypothalamic paraventricular

nuclei results in the synthesis and release of mineralocorticoids and glucocorticoids, such as corticotropin-releasing hormone and, consequently, ACTH and cortisol<sup>18</sup>.

The metabolism of cortisol is regulated by two hydroxysteroid 11 $\beta$  dehydrogenase enzymes. The 11 $\beta$  dehydrogenase 1 enzyme converts the inactive form, cortisone, into the active form, cortisol, whereas 11 $\beta$  dehydrogenase 2 converts the active cortisol into inactive, maintaining the homeostasis of that hormone<sup>7</sup>.

Increased expression of 11 $\beta$  dehydrogenase 1 enzyme is associated with the pathogenesis of central obesity, metabolic syndrome, and dysregulation of glucose and lipid metabolism. Studies have shown an association between increased expression and activity of this enzyme in visceral white adipose tissue and reduced plasma concentrations of adiponectin, which may contribute indirectly to a greater production and release of pro-inflammatory cytokines such as TNF- $\alpha$  and IL1 $\beta$ <sup>19,20</sup>.

Chronic exposure to elevated circulating levels of glucocorticoids is associated with the onset of obesity and associated metabolic disorders, considering that these hormones are required for the differentiation of preadipocytes into mature adipocytes<sup>20</sup>.

The various actions of glucocorticoids are mediated in part by intracellular receptors, the glucocorticoid receptors, which belong to the steroid/sterol/thyroid/retinoid receptors superfamily, and function as hormone dependent transcription factors<sup>21</sup>.

It is worth mentioning the contribution of glucocorticoid and mineralocorticoid receptors on the inflammatory process. These receptors have anti-inflammatory action due to two properties, genomic and non-genomic. The non-genomic pathway involves the direct interaction of these receptors with the JNK, MAPK protein in the cytoplasm, suppressing the activation of this pro-inflammatory pathway<sup>22</sup>.

Genomic action, in turn, is mediated by nuclear receptor translocation and activation of key anti-inflammatory genes (MKP-1,



IL-10, annexin-1) and repression of proinflammatory genes (TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-1 $\beta$ )<sup>22</sup>. Therefore, the impaired function of the glucocorticoid receptor is likely a mechanism for this chronic inflammation in obesity. In obesity, there is also the presence of insulin resistance; this refers to the decreased sensitivity of peripheral tissues to insulin action, especially adipose, muscular, and hepatic tissue<sup>2</sup>.

Therefore, it is important to highlight the fact that excessive visceral adipose tissue contributes to the increase of free fatty acids. Visceral adipocytes are more sensitive to catecholamine-induced lipolytic effects and have a greater number of  $\beta$ -adrenoreceptors than subcutaneous adipocytes do. Thus, the stimulation of  $\beta$ 3-adrenoreceptor by catecholamines increases free fatty acids<sup>23</sup>.

Excessive levels of free fatty acids might reduce glucose utilization by competing as substrates for the synthesis of adenosine triphosphate (ATP) in skeletal and adipocyte muscle. The mechanisms of action of fatty acids involve inhibition of hexokinase, phosphofructokinase, and the pyruvate dehydrogenase complex and, consequently, oxidation of glucose<sup>23</sup>.

In addition, studies have shown that fatty acids and intermediates of lipid metabolism inhibit glucose uptake by impairing the signaling pathway of insulin action to activate protein kinase C, which favors phosphorylation at the serine residue of the receptor substrate of insulin 1 (IRS-1). These actions prevent the interaction of the insulin receptor with its substrate, causing IRS-1 degradation and, consequently, the development of insulin resistance<sup>23-25</sup>.

In obesity, the function and number of pancreatic  $\beta$  cells also increase, as well as the reduction of hepatic and renal clearance of insulin, resulting in hyperinsulinemia. This disorder inhibits IRS2 gene transcription and IRS-1 and -2 activity by a negative feedback mechanism, which induces insulin resistance<sup>24, 25</sup>.

The role of glucocorticoids in the development of insulin resistance in individuals who are obese involves the functional antagonism of insulin and negative regulation of glucose uptake

because they release energy substrates for mitochondrial oxidation during stress to increase muscle proteolysis and lipolysis<sup>25</sup>.

The role of glucocorticoids in the regulation of adipose tissue function is quite complex and controversial. These substances induce the differentiation of pre-adipocytes into mature adipocytes, as well as lipolysis of adipose tissue under certain conditions. Chronic exposure to glucocorticoids promotes the expansion of adipose tissue, which impairs the action of insulin, resulting in hyperglycemia and dyslipidemia<sup>10,26</sup>.

Glucocorticoids appear to stimulate lipolysis through their action on the enzyme hormone-sensitive lipase, following their free fatty acid-mediated release and, thus, contribute to the development of insulin resistance<sup>24</sup>. The enzyme 11 $\beta$ -dehydrogenase 1 (11 $\beta$ -HSD1), expressed in adipose tissue, converts the inactive cortisone into its active form, cortisol, which increases the local action of glucocorticoids, regardless of their circulating concentrations<sup>20,27</sup>. In subcutaneous adipose tissue, an increase in 11 $\beta$ -HSD1 expression and activity correlates positively with obesity and insulin resistance<sup>28</sup>. In addition, the inhibition of 11 $\beta$ -HSD1 action in patients with type 2 diabetes, for example, has demonstrated clinical efficacy in improving insulin sensitivity<sup>29</sup>.

Cortisol also inhibits the translocation of GLUT4 to the plasma membrane, thereby reducing the uptake of glucose by the cell, resulting in hyperglycemia<sup>30</sup>. In addition, it may reduce the affinity of the insulin receptor or even the number of receptors, which contributes to the manifestation of resistance to the action of this hormone<sup>7</sup>.

It is noteworthy that there are specific biological differences between body fat deposits, which might affect the actions of glucocorticoids on insulin sensitivity<sup>26</sup>. In skeletal muscle, glucocorticoids reduce glucose uptake by increasing the activation of serine kinases, which phosphorylates and inactivates the insulin receptor and IRS<sup>7,30</sup>. The accumulation of intramyocellular lipids induced by glucocorticoids appears to contribute to the development of insulin resistance<sup>31</sup>. Studies on cell culture and animal models have

shown that glucocorticoids deregulate lipid metabolism in skeletal muscle, increasing  $\beta$ -oxidation and lipolysis<sup>32</sup>.

In the liver, cortisol may affect glucose metabolism by increasing the expression of genes encoding gluconeogenic enzymes such as phosphoenolpyruvate carboxykinase and glucose-6-phosphatase, which catalyze rate-limiting steps in gluconeogenesis and promote plasma glucose concentrations<sup>27</sup>.

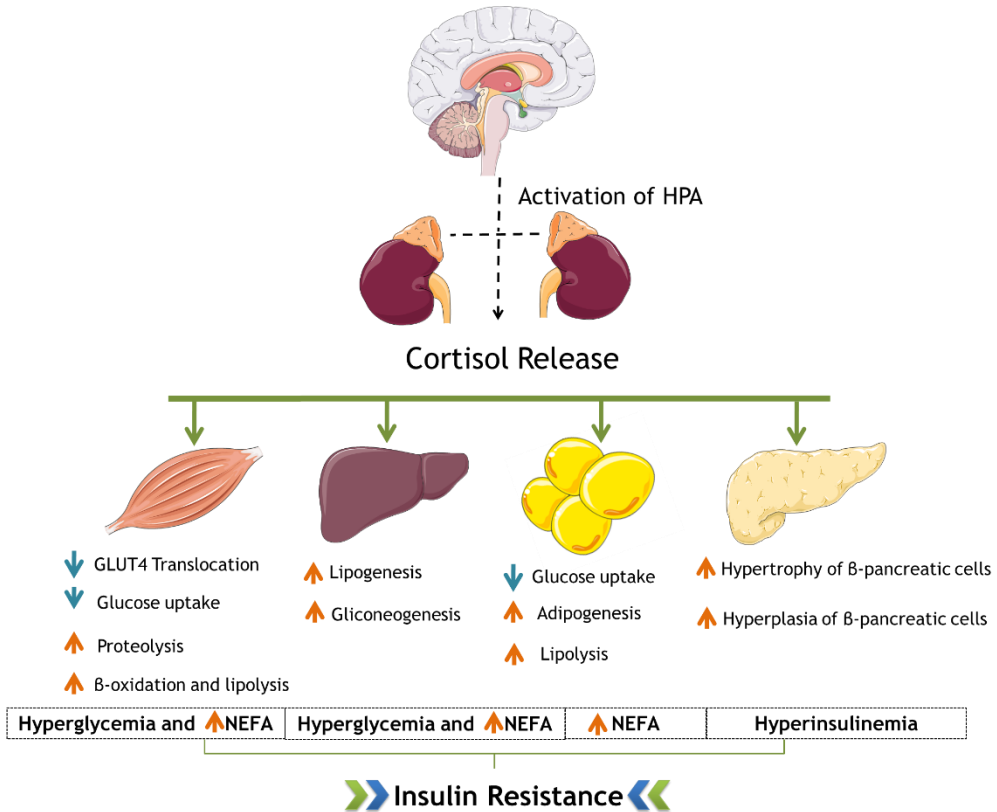
The effect of acute doses of glucocorticoids on insulin secretion involves the reduction of insulin secretion by pancreatic  $\beta$  cells, by their alteration of the oxidative metabolism of glucose, activation of K<sup>+</sup> channel repolarization of, and reduction of the activation of A and C. These actions induce the generation of reactive oxygen species and endoplasmic reticulum dismutase, increase the activity of 11 $\beta$ -HSD1, and compromise the efficiency of intracellular Ca<sup>2+</sup> ions in the secretory response (Figure 1)<sup>32</sup>.

On the other hand, chronic exposure to glucocorticoids, as occurs in obesity, promotes important morphological changes to the  $\beta$ -pancreatic cells such as hypertrophy and hyperplasia, which results in increased synthesis and secretion of insulin with consequent hyperinsulinemia. In addition, glucocorticoids also play a central role in promoting vagal stimulation and, thus, increase insulin secretion, contributing to the manifestation of insulin resistance in obesity<sup>10,30</sup>.

#### **4.4 Influence of Cortisol on Zinc Metabolism: What Are Its Effect on Insulin Resistance?**

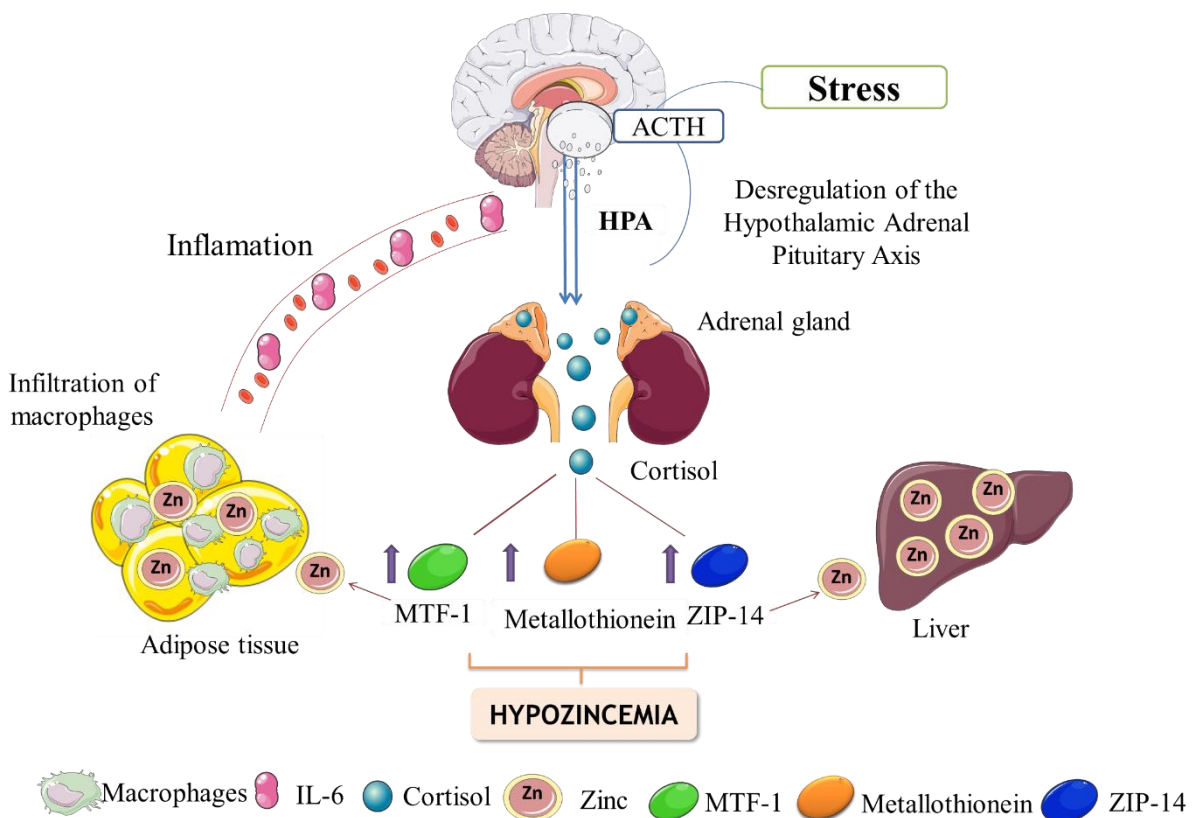
The literature reports changes in the metabolism of various minerals in obesity such as zinc<sup>33,34</sup>. Studies have also shown reduced serum or erythrocyte concentrations of zinc in individuals who are obese, which is associated with the development of various metabolic disorders such as oxidative stress, chronic inflammation, and insulin resistance<sup>35,36</sup>. In discussing this topic, it is important to highlight that cortisol induces the activation of metal-regulatory transcription factor 1

(MTF1) and, thus, increases the gene expression of metallothionein and Zip14, which reduces plasma zinc concentrations (Figure. 2)<sup>37,38</sup>.



**Figure 1 Mechanisms involved in the participation of glucocorticoids on the manifestation of insulin resistance**

AGNE: non-esterified fatty acids; HPA: Hypothalamic Pituitary Adrenal axis. The hyperresponsiveness of HPA present in obesity increases the secretion of glucocorticoids by the adrenal cortex, which plays important roles in several tissues. In skeletal muscle, they increase muscle proteolysis, β-oxidation, and lipolysis and reduce GLUT4 translocation, with consequent impairment in glucose uptake. In the liver, they increase lipogenesis and gluconeogenesis. In adipose tissue, these hormones promote adipogenesis and increase lipolysis. In the pancreas, they act to induce hypertrophy and hyperplasia of β-pancreatic cells, with consequent hyperinsulinemia and organ dysfunction. All these effects contribute to the reduction of insulin sensitivity in the body.



**Figure 2. Action of cortisol on zinc metabolism**

HPA: Hypothalamic Adrenal Pituitary Axis; IL-6: interleukin 6; ACTH: Adrenocorticotropic hormone; MTF1: regulatory metal transcription factor 1; Zn: Zinc. Increased inflammation and stress promote HPA hyperresponsiveness by increasing cortisol secretion. This glucocorticoid, in turn, induces the activation of metal regulatory transcription factor 1 (MTF1) and increased gene expression of metallothionein and Zip14, favoring the compartmentalization of zinc in liver and adipose tissue and, consequently, zincemia.

These data are confirmed in the literature in studies demonstrating that patients with Cushing's syndrome, characterized by excess production of cortisol, exhibit a reduction in serum zinc

concentrations, whereas individuals with adrenal insufficiency, in which there is reduced cortisol production, exhibit increased serum zinc levels<sup>37–39</sup>.

Takeda et al.<sup>38</sup> evaluated the role of glucocorticoid on signaling of zinc in brain and demonstrate that it acts as corticosterone on excitatory synaptic vesicles of neurons that contain zinc in the hippocampus, increasing its release. Thus, zinc can bind to membrane receptors or enter the postsynaptic neuron through protein channels or by the action of transporters, triggering protein kinase cascades that can induce gene expression of zinc-carrying proteins.

Furthermore, it should be noted that changes in zinc homeostasis induced particularly by cortisol might contribute to the development of insulin resistance in individuals who are obese since adequate concentrations of zinc affect the secretion and action of insulin<sup>40</sup>.

Zinc plays a key role in the formation and crystallization of insulin, which is essential to the activity of this hormone. In addition, it stimulates the phosphorylation of the  $\beta$ -subunit of the insulin receptor and promotes activation of phosphatidylinositol 3-kinase and protein kinase B (Akt) proteins, to potentiate the transport of glucose into the cells<sup>40–42</sup>.

Zinc also allows activation of Akt signaling pathway proteins by inhibiting the action of proteins such as phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K) phosphatase, which promotes the dephosphorylation of phosphatidylinositol 3,4,5-triphosphate (PIP3) and inhibition of the Akt protein. Thus, zinc favors GLUT4 translocation and glucose uptake<sup>42</sup>.

Zinc as a structural component of insulin-responsive aminopeptidase (IRAP), facilitates the transport of glucose into the cell since this protein is necessary for the adequate maintenance of GLUT4 concentration in adipose and muscle cells<sup>43</sup>.

Another relevant action of zinc, which is similar to that of insulin, involves stimulating phosphorylation of the serine residue of the glycogen synthase kinase 3 (GSK-3) enzyme, inhibiting its action.

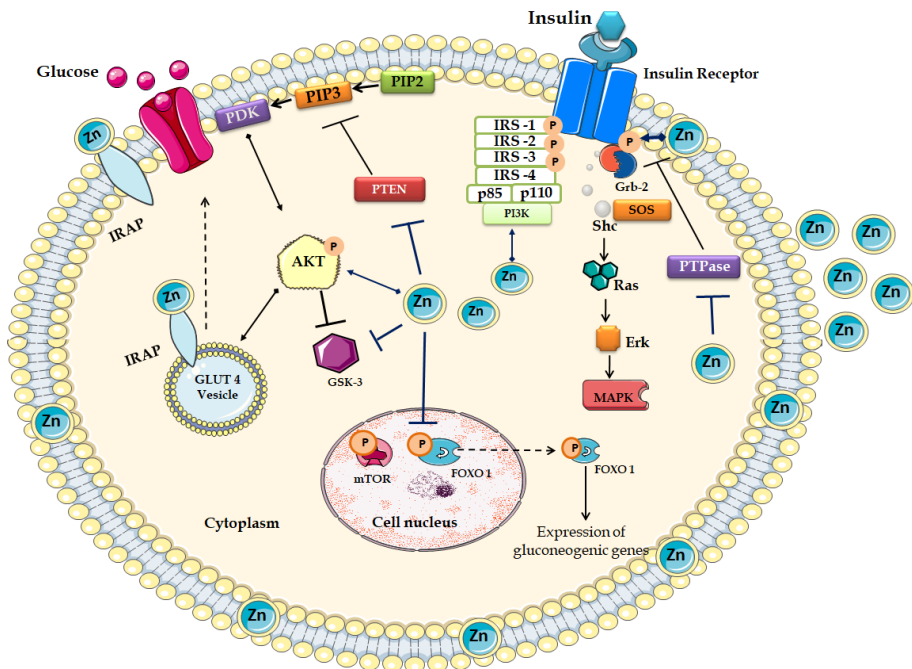
This action activates glycogen synthase, the enzyme involved in glycogen synthesis. Zinc also induces the phosphorylation of the transcription factor forkhead box protein O1 (FOXO1), inducing its translocation from the nucleus to the cytoplasm, inhibiting the expression of gluconeogenic genes. Thus, zinc inhibits glucose production and increases glycogen synthesis, contributing to glycemic homeostasis<sup>42</sup>.

In skeletal muscle, zinc- $\alpha$ 2-glycoprotein (ZAG) is involved in lipid mobilization, and zinc forms part of the structure of ZAG and has binding sites, which stimulate the phosphorylation of AMP-activated protein kinase (AMPK) and increase GLUT4 protein in cell<sup>20</sup>. A study by Balaz et al.<sup>44</sup> found a positive association between insulin sensitivity in subcutaneous adipose tissue and ZAG expression.

In addition, zinc modulates the transcription of the insulin receptor gene, which is mediated by zinc finger proteins that contain zinc in their structure. The binding sites of such proteins are required to activate expression of the gene encoding the insulin receptor. Zinc finger 407 regulates glucose uptake by increasing GLUT4 messenger RNA levels and stimulating its transcription<sup>45</sup>.

Thus, alterations in the biochemical parameters of zinc observed in individuals who are obese contribute to the development of disorders in the synthesis, secretion, and action of insulin (Figure 3).

Importantly, both the increase and reduction of serum zinc concentrations promote changes in adrenal secretion<sup>46</sup>. The results of the study by Chen et al.<sup>47</sup> reveal zinc action on the glucocorticoid receptor. This study verified that zinc inhibits the binding of glucocorticoids to their receptor because there is a region of zinc binding in the receptor of these hormones. Therefore, this micronutrient reduces the effects of glucocorticoids in the body.



**Figure 3. Zinc participation in mechanisms involved in the insulin signaling pathway.**

AKT: protein kinase B; FOXO: forkhead box protein O1; GRB: growth factor 2; GSK: glycogen synthase kinase 3; IRAP: insulin-responsive aminopeptidase; MAPK: mitogenactivated protein kinase; mTOR: mammalian target of rapamycin; PDK: phosphatidylinositol kinase-dependent; PIP3: phosphatidylinositol 3,4,5-triphosphate; PTEN: phosphatase and tensin homolog; PI3K: phosphatidylinositol 3-kinase; Ras: protein codified by ras proto-oncogene; Shc: protein homologous to collagen with SH2 domain; SOS: son of sevenless.

Studies have shown that excess zinc in the adrenal gland exerts effects on the synthesis and secretion of cortisol, since zinc acts on the sulfhydryl groups of the cell membranes and, thereby, inhibits several membrane enzymes including ATPase and adenyl cyclase, which block cortisol secretion by the reticular and fascicular cells of the adrenal cortex<sup>39</sup>.



On the other hand, zinc deficiency in the diet has been shown to be a contributing factor in increased cortisol secretion, since the reduction of its serum concentration increases the HPA axis activity, followed by an increase in glucocorticoid secretion from of the adrenal cortex<sup>46-49</sup>.

Obesity is currently a public health problem, and this global concern is complicated by the incidence of critical metabolic disorders such as insulin resistance and the inconsistency of information on the probable mechanisms involving disorders of zinc metabolism in this disease. From the data obtained through this literature review, the presence of hormonal changes in obesity, such as cortisol metabolism and impaired insulin action, is evident, as well as the interaction between these metabolic pathways that may have relevant repercussions on zinc metabolism.

**Author Contributions** The authors contributed equally.

**Conflicts of Interest** The authors declare that they have no conflict of interest.

## 4.5 References

1. World Health Organization. World health statistics. *Technical report series*, Geneva (2012).
2. Cruz, K. J. C. et al. The effect of zinc supplementation on insulin resistance in obese subjects: a systematic review. *Biol Trace Elem Res.*, **176**, 239–243 (2017).
3. Morais, J. B. S. et al. Magnesium status and its association with oxidative stress in obese women. *Biol Trace Elem Res.*, **175**, 306–331 (2017).
4. Oliveira, A. R et al. Magnesium status and its relationship with c-reactive protein in obese women. *Biol Trace Elem Res.*, **168**, 296–302 (2015).
5. Scherer, T. et al. Short term voluntary overfeeding disrupts brain insulin control of adipose tissue lipolysis. *J Biol Chem.*, **287**, 33061–33069 (2012).
6. Shibata, R., Ouchi, N., Ohashi, K., Murohara, T. The role of adipokines in cardiovascular disease. *J Cardiol.*, **70**, 329–334 (2017).
7. Geer, E. B., Islam, J., Buettner, C. Mechanisms of glucocorticoid-induced insulin resistance: focus on adipose tissue function and lipid metabolism. *Endocrinol Metab Clin North Am.*, **43**, 75–102 (2014).
8. Martins, L. M et al. Influence of cortisol on zinc metabolism in morbidly obese women. *Nutr Hosp.*, **29**, 57–63 (2014).
9. Rodriguez, A. C. I et al. Hypothalamic-pituitary-adrenal axis dysregulation and cortisol activity in obesity: a systematic review. *Psychoneuroendocrinology.*, **62**, 301–318 (2015).
10. Chao, A. M., Jastreboff, A. M., White, M. A., Grilo, C. M., Sinha, R. Stress, cortisol, and other appetite-related hormones: prospective prediction of 6-month changes in food cravings and weight. *Obesity (Silver Spring).*, **25**, 713–720 (2017).

11. Desarzens, S.& Faresse, N. Adipocyte glucocorticoid receptor has minor contribution in adipose tissue growth. *J Endocrinol.*, **230**, 1–11 (2016).
12. Bury, N. R., Chung, M. J., Sturm, A., Walker, P. A., Hogstrand, C. Cortisol stimulates the zinc signaling pathway and expression of metallothioneins and ZnT1 in rainbow trout gill epithelial cells. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.*, **294**, 623–629 (2008).
13. Noh, H., Paik, H. Y., Kim, J., Chung, J. The changes of zinc transporter ZnT gene expression in response to zinc supplementation in obese women. *Biol Trace Elem Res.*, **162**, 38–45 (2014).
14. Cooper-Capetini, V. et al. Zinc supplementation improves glucose homeostasis in high fat-fed mice by enhancing pancreatic  $\beta$ -cell function. *Nutrients.*, **9**, 1–12 (2017).
15. Troche, C., Aydemir, T. B., Cousins, R. J. Zinc transporter Slc39a14 regulates inflammatory signaling associated with hypertrophic adiposity. *Am J Physiol Endocrinol Metab.*, **310**, 258–268 (2016).
16. Papafotiou, C. Hair cortisol concentrations exhibit a positive association with salivary cortisol profiles and are increased in obese prepubertal girls. *Stress.*, **20**, 217–222 (2017).
17. Huang, C. J., Acevedo, E. O., Mari, D. C., Randazzo, C., Shibata, Y. Glucocorticoid inhibition of leptin- and lipopolysaccharide-induced interleukin-6 production in obesity. *Brain Behav Immun.*, **35**, 163–168 (2014).
18. Edwards C (2012) Sixty years after Hench—corticosteroids and chronic inflammatory disease. *J Clin Endocrinol Metab* 97(5): 1443–1451.
19. Kaur, K. et al. Synergistic induction of local glucocorticoid generation by inflammatory cytokines and glucocorticoids: implications for inflammation associated bone loss. *Ann Rheum Dis.*, **69**, 1185–1190 (2010).

20. Gathercole, L. L. et al. Regulation of lipogenesis by glucocorticoids and insulin in human adipose tissue. *PLoS One.*, **6**, 26223 (2011).
21. Pavlatou, M. G et al. Circulating cortisol-associated signature of glucocorticoid-related gene expression in subcutaneous fat of obese subjects. *Obesity (Silver Spring).*, **21**, 960–967 (2013).
22. De Bosscher, K. & Haegeman, G. Minireview: latest perspectives on antiinflammatory actions of glucocorticoids. *Mol Endocrinol.*, **23**, 281–291 (2009).
23. Schweiger, M., Romauch, M., Schreiber, R., Grabner, G. F., Hutter, S. Pharmacological inhibition of adipose triglyceride lipase corrects high-fat diet-induced insulin resistance and hepatosteatosis in mice. *Nat Commun.*, **22**, 14859 (2017).
24. Yang, X. D., Xiang, D. X., Yang, Y. Y. Role of E3 ubiquitin ligases in insulin resistance. *Diabetes Obes Metab.*, **18**, 747–754 (2016).
25. Kim, D. K. et al. PKB/Akt phosphorylation of ERRgamma contributes to insulin-mediated inhibition of hepatic gluconeogenesis. *Diabetology.*, **57**, 2576–2585 (2014).
26. Benbaibeche, H et al. Implication of corticotropic hormone axis in eating behaviour pattern in obese and type 2 diabetic participants. *Br J Nutr.*, **113**, 1237–1243 (2015).
27. Yuan, X et al. The 11 $\beta$ - hydroxysteroid dehydrogenase type 1 inhibitor protects against the insulin resistance and hepatic steatosis in db/db mice. *Eur J Pharmacol.*, **27**, 140–151 (2016).
28. Shao, S., Zhang, X., Zhang, M. Inhibition of 11 $\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase type 1 ameliorates obesity-related insulin resistance. *Biochem Biophys Res Commun.*, **478**, 474–480 (2016).
29. Rosenstock, J et al. The 11-beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 1 inhibitor INCB13739 improves hyperglycemia in patients with type 2 diabetes. *Diabetes Care.*, **33**, 1516–1522 (2010).
30. Macfarlane, D. P. Effects of acute glucocorticoid blockade on metabolic dysfunction in patients with type 2 diabetes with and without

fatty liver. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.*, **307**, 760–768 (2014).

31. Hazlehurst, J. M et al. Glucocorticoids fail to cause insulin resistance in human subcutaneous adipose tissue in vivo. *J Clin Endocrinol Metab.*, **98**, 1631–1640 (2013).

32. Linssen, M. M et al. Prednisolone-induced beta cell dysfunction is associated with impaired endoplasmic reticulum homeostasis in INS-1E cells. *Cell Signal.*, **23**, 1708–1715 (2011).

33. García, O. P et al. Zinc, iron and vitamins A, C and E are associated with obesity, inflammation, lipid profile and insulin resistance in Mexican school-aged children. *Nutrients.*, **5**, 5012–5030 (2013).

34. Kelishadi, R et al. Effect of zinc supplementation on markers of insulin resistance, oxidative stress.. *Metab Syndr Relat Disord.*, **8**, 505–510 (2010).

35. Suliburska, J et al. The evaluation of selected serum mineral concentrations and their association with insulin resistance in obese adolescents. *Eur Ver Med Pharmacol Sci.*, **17**, 2396–2400 (2013).

36. Kim, J. & Ahn, J. Effect of zinc supplementation on inflammatory markers and adipokines in young obese women. *Biol Trace Elem Res.*, **157**, 101–106 (2014).

37. Takeda, A et al. Significance of serum glucocorticoid and chelatable zinc in depression and cognition in zinc deficiency. *Behav Brain Res* **226**, 259–264 (2012).

38. Takeda, A. & Tamano, H. Zinc signaling through glucocorticoid and glutamate signaling in stressful circumstances. *Neurosci Res.*, **88**, 3002–3010 (2010).

39. Brandão-Neto, J et al. Zinc acutely and temporarily inhibits adrenal cortisol secretion in humans. *Biol Trace ElemRes.*, **24**, 83–89 (1990).

40. Capdor, J., Foster, M., Petocz, P., Samman, S. Zinc and glycemic control: a meta-analysis of randomised placebo controlled

supplementation trials in humans. *J Trace Elem Med Biol.*, **27**, 137–142 (2013).

41. Marreiro, D. N et al. Effect of zinc supplementation on sérum leptin levels and insulin resistance of obese women. *Biol Trace Elem Res.*, **112**, 109–118 (2006).

42. Vardatsikos, G., Pandey, N. R., Srivastava, A. K. Insulino-mimetic and anti-diabetic effects of zinc. *J Inorg Biochem.*, **120**, 8–17 (2013)

43. Demaegdt, H., De Backer, J. P., Lukaszuka, T. G., Szemenyeie, T.D., Vauquelin, G. Angiotensin IV displays only low affinity for native insulin-regulated aminopeptidase (IRAP). *Fundam Clin Pharmacol.*, **26**, 194–197 (2012).

44. Balaz, M et al. Subcutaneous adipose tissue zinc-alpha2-glycoprotein is associated with adipose tissue and whole-body insulin sensitivity. *Obesity (Silver Spring)*., **22**, 1821–1829 (2014).

45. Buchner, D. A et al. Zinc finger protein 407 (ZFP407) regulates insulin-stimulated glucose uptake and glucose transporter 4 (Glut4) mRNA. *J Biol Chem.*, **290**, 6376–6386 (2015).

46. Fraker, P. J., Osati-Ashtiani, F., Wagner, M. A., King, L. E. Possible roles for glucocorticoids and apoptosis in the suppression of lymphopoiesis during zinc deficiency: a review. *J Am Coll Nutr.*, **14**, 11–17 (1995).

47. Chen, D., Li, X., Zhai, Z., Shu, H. B. A novel zinc finger protein interacts with receptor-interacting protein (RIP) and inhibits tumor necrosis factor (TNF)- and IL1-induced NF-kappa B activation. *J Biol Chem.*, **277**, 15985–15991 (2002).

48. Takeda, A. & Tamano, H. Insight into zinc signaling from dietary zinc deficiency. *Brain Res Ver.*, **62**, 33–44 (2009).

49. Hackett, R. A., Kivimäki, M., Kumari, M. S. A. Diurnal cortisol patterns, future diabetes, and impaired glucose metabolism in the Whitehall II cohort study. *J Clin Endocrinol Metab.*, **101**, 619–625 (2016).

## **5 RELAÇÃO ENTRE PARÂMETROS DO METABOLISMO DO CORTISOL, BIOMARCADORES DOS MINERAIS (ZINCO, SELÊNIO E MAGNÉSIO) E A RESISTÊNCIA À INSULINA E ESTRESSE OXIDATIVO EM MULHERES COM OBESIDADE**

Este capítulo apresenta a versão traduzida do artigo científico intitulado “*Association between parameters of cortisol metabolism, biomarkers of minerals (zinc, selenium and magnesium) and insulin resistance and oxidative stress in women with obesity*”, publicado no periódico *Biological Trace Element Research* (ISSN 1559-0720).

### **5.1 Resumo**

Estudo transversal envolvendo 174 mulheres que foram divididas em grupo de mulheres com obesidade (n=80) e grupo controle (n=94). A análise estatística foi realizada por meio do programa SPSS. As mulheres obesas apresentaram concentrações aumentadas de cortisol no soro e na urina, bem como hipozincemia, hiposselenemia e hipomagnesemia e aumento da excreção urinária desses minerais. Houve uma correlação negativa entre a relação cortisol/cortisona e as concentrações de zinco e selênio eritrocitários, uma correlação positiva significativa entre a GPx e a atividade da SOD e as concentrações de zinco e selênio eritrocitários e plasmáticos. Os resultados do estudo sugerem a influência da adiposidade no aumento das concentrações de cortisol, o papel desse hormônio na compartimentalização dos minerais zinco, selênio e magnésio. No entanto, o estudo de associação não permite identificar o impacto dessa ação no sistema de defesa antioxidante e na sensibilidade à insulina.

**Palavras-chave:** obesidade; cortisol; zinco, selênio; magnésio; resistência à insulina e estresse oxidativo

### **5.2 Introdução**

A obesidade é caracterizada pelo acúmulo excessivo de gordura corporal decorrente do desequilíbrio entre o consumo de energia e o gasto energético, com etiologia complexa e multifatorial, envolvendo fatores genéticos e ambientais que podem comprometer a saúde e aumentar a morbimortalidade<sup>1</sup>. Essa doença contribui para o aumento do risco de desenvolvimento de outras doenças crônicas importantes como diabetes mellitus tipo 2, doenças cardiovasculares e alguns tipos de câncer<sup>2</sup>.

A disfunção do tecido adiposo constitui a base fisiopatológica da obesidade e é caracterizada pela hipertrofia de adipócitos, redução da angiogênese, hipóxia local, fibrose, inflamação crônica de baixo grau e desordens hormonais importantes, como por exemplo alterações no metabolismo do cortisol, um glicocorticoide com secreção e sensibilidade comprometidas em indivíduos com obesidade<sup>3-5</sup>.

Nessa temática, é oportuno ressaltar que a literatura tem demonstrado a relevância da desregulação do eixo hipotalâmico-pituitário-adrenal (HPA) na presença da disfunção do tecido adiposo como fator contribuinte para acentuar a síntese e secreção de cortisol, o que consequentemente favorece o aumento do risco para o desenvolvimento de desordens metabólicas associadas a obesidade<sup>6</sup>. Destaca-se que o cortisol atua como importante regulador da função endócrina, do metabolismo e diferenciação de adipócitos, contribuindo na adipogênese e aumento dos estoques de gordura visceral<sup>7</sup>. Além disso, esse hormônio também está envolvido na resposta central ao estresse e influencia indiretamente os mecanismos de neuroproteção<sup>8</sup>.

Associado a isso, estudos têm demonstrado a influência do cortisol no metabolismo de micronutrientes, em particular dos minerais zinco, selênio e magnésio, com alguns mecanismos já fundamentados. Pesquisas realizadas com base molecular revelam a participação do cortisol no aumento da expressão de genes codificantes para metalotioneína e proteína transportadora de zinco ZIP-14, proteínas que acumulam o zinco em tecidos específicos como hepático e adiposo, favorecendo a manifestação do quadro de hipozincemia, em particular em indivíduos com obesidade<sup>5,7</sup>.



O cortisol também influencia na homeostase dos minerais magnésio e selênio por favorecer a manifestação do estresse oxidativo, bem como por alterar a atividade e a expressão de enzimas do sistema de defesa antioxidante. O estresse oxidativo, exacerbado pela presença do cortisol, por sua vez, favorece o esgotamento de componentes do sistema de defesa antioxidante não enzimático, como por exemplo, os minerais selênio e magnésio. Assim, a redução das concentrações desses nutrientes no soro de indivíduos com obesidade pode comprometer suas funções no metabolismo lipídico, na ação da insulina e na atividade antioxidante<sup>8,10-14</sup>.

Nessa perspectiva, embora já tenha sido demonstrado a influência da disfunção do tecido adiposo no metabolismo do cortisol com impacto importante na homeostase dos minerais magnésio, zinco e selênio, ainda há lacuna na literatura com dados robustos que possam fundamentar o efeito de tais alterações na manifestação da resistência à ação da insulina e do estresse oxidativo na obesidade. Assim, este estudo teve como objetivo verificar relação entre parâmetros do metabolismo do cortisol, biomarcadores dos minerais (zinco, selênio e magnésio) e a resistência à insulina e o estresse oxidativo em mulheres com obesidade.

## **5.3 METODOS**

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

Trata-se de um estudo de natureza transversal envolvendo 174 mulheres adultas na faixa etária entre 20 e 50 anos, as quais foram alocadas em dois grupos distintos de acordo com o Índice de Massa Corpórea (IMC): grupo obesidade (n = 80) constituído por mulheres com IMC a partir de 35,00 kg/m<sup>2</sup> e o grupo eutrofia (n = 94) formado por mulheres com IMC entre 18,50 e 24,99 kg/m<sup>2</sup>. O recrutamento das participantes do estudo ocorreu nos anos de 2018 a 2020 conforme a demanda dos atendimentos nas instituições de saúde e mediante o consentimento informado.

A seleção das voluntárias foi baseada nos seguintes critérios de elegibilidade:

- Apresentar eutrofia ou diagnóstico de obesidade grau II ou III;
- Não estar gestante, lactante ou na pós-menopausa;
- Não ser fumante ou ex-fumante;
- Não ingerir álcool de forma crônica;
- Não apresentar diabetes, doenças hepáticas (exceto hepatopatia gordurosa não alcoólica), câncer, insuficiência renal, doenças inflamatórias intestinais, infecciosas ou cardiovasculares (dados autorreferidos);
- Não fazer uso regular de suplemento vitamínico-mineral e de medicamentos anti-inflamatórios.

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal do Piauí (n° do parecer 2.014.100 - ANEXO1). Todas as participantes assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido após serem informadas a respeito da natureza da pesquisa (APÊNDICE 1).

### 5.3.2 Avaliação dos parâmetros antropométricos

A avaliação antropométrica foi realizada por meio da aferição do peso corporal, estatura e das circunferências da cintura e quadril, conforme os procedimentos técnicos estabelecidos (APÊNDICE 2)<sup>15,16</sup>. Para avaliação do estado nutricional das participantes do estudo, o IMC foi calculado a partir da divisão entre o peso da participante e a sua estatura elevada ao quadrado<sup>17</sup>. Além disso, foi calculada a relação cintura/quadril.

### 5.3.3 Avaliação do consumo alimentar

A quantidade de energia, macronutrientes e magnésio, zinco e selênio consumidas pelas participantes do estudo foram obtidas por meio da análise do registro alimentar de 3 dias utilizando o programa Nutwin (versão 1.5) a partir dos dados da Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (APÊNDICE 3)<sup>18</sup>. A análise das quantidades dos minerais magnésio, zinco e selênio foi conduzida a partir da inserção dos dados do estudo de Ferreira et al.<sup>19</sup>, da Tabela de Composição de Alimentos do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística e do National Nutrient Database for Standard Reference do Departamento de Agricultura dos Estados Unidos no programa Nutwin (versão 1.5)<sup>20,21</sup>.

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<sup>22</sup>; 45µg de selênio/dia<sup>23</sup> e 6,8 mg de zinco/dia<sup>24</sup>. A ingestão de energia, macronutrientes magnésio, zinco e selênio foi corrigida conforme variação intra e interpessoal. Além disso, a ingestão dietética desses minerais também foi ajustada para o consumo de energia.

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 de energia e desses nutrientes por meio de análise de regressão logística. Este programa pode ser acessado por meio do website MSM (<https://nugo.dife.de/msm/>)<sup>25-28</sup>.

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<sup>29-31</sup>.

#### 5.3.4 Coleta e processamento do material biológico

A coleta de sangue foi realizada no período da manhã, entre 7 e 9 horas, estando as participantes em jejum de no mínimo 12 horas, sendo coletados 20 mL de sangue, os quais foram distribuídos em tubos distintos: (1) tubo a vácuo contendo ácido etilenodiaminotetracético (EDTA) para análise de selênio, marcadores de estresse oxidativo e hemoglobina glicada (8 mL), (2) tubo a vácuo com ativador de coágulo para análise de parâmetros do controle glicêmico (4 mL), (3) tubo seco para análise de marcadores do metabolismo do cortisol (4mL) e (4) tubo contendo citrato para análise de zinco e magnésio (4mL).

##### *Separação dos componentes sanguíneos*

Para separação do plasma e da massa eritrocitária, os tubos contendo EDTA e citrato foram centrifugados a  $1764 \times g$  durante 15 minutos a  $4^{\circ}\text{C}$ , sendo posteriormente armazenado a  $-20^{\circ}\text{C}$ . A massa eritrocitária, resultante do processo de centrifugação dos dos tubos foi lavada com 3,5 mL de solução salina isotônica (NaCl a 0,9%), sendo cuidadosamente homogeneizada por inversão e, posteriormente, centrifugada a  $2401 \times g$  por 10 minutos. Este procedimento foi repetido três vezes para remover contaminantes dos eritrócitos (plaquetas e leucócitos). Após a última centrifugação, a solução salina foi aspirada e descartada, e a massa eritrocitária foi extraída cuidadosamente com o auxílio de uma pipeta automática e transferida para microtubos desmineralizados para análise do magnésio, zinco e selênio eritrocitários e hemoglobina. Os tubos secos e com ativador de coágulo foram centrifugados a  $1764 \times g$  durante 15 minutos a  $4^{\circ}\text{C}$  para obtenção do soro que foi acondicionado a  $-80^{\circ}\text{C}$  para análise dos demais parâmetros.

A urina de 24 horas foi coletada em frasco plástico âmbar previamente desmineralizado (APÊNDICE 4). Após homogeneização do conteúdo total de urina, foi retirada uma alíquota de 4 mL, que foi transferida para microtubos devidamente desmineralizados e conservados em freezer a  $-20^{\circ}\text{C}$  para posterior análise de selênio e zinco. Uma alíquota de 4 ml foi transferida para microtubos e conservados em freezer a  $-80^{\circ}\text{C}$  para análise posterior dos marcadores

urinários do metabolismo do cortisol. 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<sup>32</sup>. Posteriormente foram retirados 4 mL de urina e distribuídos em dois microtubos, os quais foram conservados em freezer a -20°C.

Para o cálculo do volume urinário, considerou-se a densidade (1,015 g/mL) e a massa da urina (diferença entre o peso do frasco antes e após a coleta da urina de 24 horas, aferido em balança semianalítica).

### 5.3.5 Avaliação dos Parâmetros Bioquímicos do Magnésio, Selênio e Zinco

As análises das concentrações plasmáticas, eritrocitárias e urinárias dos minerais 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 estão apresentados no quadro 1.

<b>Minerais</b>	<b>Valores de Referência</b>
Zn Plasmático	75 a 110 µg/dL <sup>35</sup>
Zn Eritrocitário	40 a 44 µg/gHb <sup>36</sup>
Zn Urinário	300-600 µg/24 horas <sup>35</sup>
Se Plasmático	80 a 95 µg/L <sup>37</sup>
Se Eritrocitário	0,18 a 0,55 µg/gHb <sup>38</sup>
Se Urinário	Cálculo do <i>clearance</i> <sup>39</sup>
Mg Plasmático	0,75 a 1,05 mmol/L <sup>33</sup>
Mg Eritrocitário	1,65 a 2,65 mmol/L <sup>34</sup>
Mg Urinário	3,00 a 5,00 mmol/dia <sup>34</sup>

**Quadro 1. Valores de referência adotados para os minerais zinco, selênio e magnésio.**

### 5.3.6 Determinação dos Parâmetros do Controle Glicêmico

As concentrações plasmáticas da glicose de jejum foram determinadas por meio do método enzimático colorimétrico, sendo considerados indicativos de diabetes os valores iguais ou superiores a 125 mg/dL, segundo os critérios definidos pela American Diabetes Association (ADA)<sup>40</sup>.

As concentrações de insulina no soro foram analisadas por meio do método de quimioluminescência, tendo como padrão de referência os valores entre 6 e 27  $\mu\text{U/mL}$ . A hemoglobina glicada (HbA1C) foi analisada pelo método de cromatografia de troca iônica, e valores iguais ou superiores a 6,5% foram adotados como ponto de corte para o diagnóstico de diabetes<sup>40</sup>.

Para avaliação da resistência à insulina, utilizou-se a versão atualizada do modelo matemático de avaliação da homeostase para resistência à insulina (Homeostasis Model Assessment – HOMA), calculado a partir das concentrações de glicose em jejum e insulina em jejum. Valores HOMA-IR maiores que 2,71 significam resistência à insulina<sup>41,42</sup>.

### 5.3.7 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<sup>43</sup> 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<sup>44</sup>, que se baseia no decaimento da absorbância decorrente da redução de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 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<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e 2 mL da diluição da amostra. A atividade enzimática foi expressa em mmol de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> consumido por minuto e grama por grama de hemoglobina (mmol.min<sup>-1</sup>.g<sup>-1</sup>/gHb).

### 5.3.8 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<sup>45</sup>. 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).

### 5.3.9 Determinação dos Marcadores do Metabolismo do Cortisol

#### *Cortisol Sérico*

As concentrações séricas de cortisol foram determinadas por meio do método de quimioluminescência, tendo como padrão de referência os valores de 6,70 a 22,60 µg/dL para o período da manhã<sup>46</sup>.

#### *Hormônio Adrenocorticotrófico (ACTH) Sérico*

As concentrações de ACTH no soro foram determinadas por meio do método de quimioluminescência, tendo como padrão de referência os valores inferiores a 46,0 pg/mL.

#### *Globulina Ligadora do Cortisol (CBG) Sérica*

As concentrações de CGB no soro foram determinadas por meio do método de radioimunoensaio, tendo como padrão de referência os valores de 40,0 a 154,0 µg/mL

#### *Cortisol, Cortisona, Tetrahydrocortisol (THF) e Tetrahydrocortisona (THE) Urinários*

As concentrações urinárias de cortisol, cortisona, tetrahydrocortisol (THF) e tetrahydrocortisona (THE) foram analisadas em amostras de urina de 24 horas por cromatografia líquida de diluição de isótopos e espectrometria de massa em tandem, sendo adotados os seguintes valores de referência: 3,0 a 43,0 µg /24h para o cortisol urinário, 5 a 122 µg /24h para cortisona urinária, 0,5 a 1,5 mg/24h para THF e 1,2 a 3,5 mg/24h para THE.

#### *Atividade Enzimática das enzimas 11β-hidroxiesteroide desidrogenase (11β-HSD )*

A atividade das enzimas 11β-HSD foi calculada utilizando a proporção de metabólitos urinários de cortisol e de cortisona (THF/THE), considerando que tal proporção reflete a atividade enzimática da 11β-HSD tipo 2 nos rins, adotando o valor de referência 0,11 a 0,67 µg /24h, conforme mostra o Quadro 1.

#### *Atividade Enzimática da 5β-redutase*



A atividade da enzima 5 $\beta$ -redutase pode ser inferida pela razão THF/cortisol e THE/cortisona, com as proporções apresentadas no Quadro 2.

Razões	Índices
Cortisol/cortisona	Atividade da enzima 11 $\beta$ -HSD tipo 2
THF/THE	Atividade geral das enzimas 11 $\beta$ -HSD
THF/cortisol	Atividade da enzima 5 $\beta$ -redutase
THE/cortisona	Atividade da enzima 5 $\beta$ -redutase

**Quadro 2. Índices da atividade das enzimas que participam do metabolismo do cortisol.**

11 $\beta$ -HSD: 11 $\beta$ -hidroxiesteróide desidrogenase; THE: tetrahydrocortisona; THF: tetrahydrocortisol.

Fonte: Schutten et al.<sup>8</sup>

## 2.11 Análise Estatística

Considerando o número de dados ausentes no banco de dados, 23% no grupo controle e 3,6% no grupo de mulheres com obesidade, 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.

A imputação única foi realizada pelo método *Predictive Mean Matching* (PMM), o qual é indicado para variáveis quantitativas. Foi conduzida em três etapas<sup>47</sup>, utilizando a função criada por Andreozzi<sup>48</sup>: (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. O processo foi realizado no programa R (R Development Core Team).

Os dados foram organizados em planilhas do Microsoft Excel® para realização da análise descritiva das variáveis observadas, sendo posteriormente exportados para o programa SPSS (versão 25.0) para análise estatística dos resultados. As variáveis contínuas foram expressas como média  $\pm$  DP.

A pressuposição de normalidade das variáveis foi avaliada por meio do teste de *Kolmogorov-Smirnov*. Em seguida, para fins de comparação entre os grupos, o teste t de *Student* foi utilizado para as variáveis contínuas com distribuição normal, e o teste de *Mann-Whitney* para aquelas com distribuição não paramétrica. Para o estudo de correlações, utilizou-se o coeficiente de correlação de *Pearson* ou de *Spearman* para variáveis com distribuição paramétrica e não paramétrica, respectivamente. Os testes foram considerados significativos quando os valores de  $p < 0,05$ .

Utilizou-se a análise de correlação canônica generalizada de kernel (KGCCA) de acordo com a metodologia de Tenenhaus, Philippe e Frouin<sup>49</sup>, a fim de melhor compreender as inter-relações existentes entre os blocos de variáveis, sendo um método que combina a não linearidade e a análise multigrupo. Para esta análise, todas as variáveis foram padronizadas (média zero e variância um) para tornar os blocos comparáveis, sendo que uma estratégia possível é padronizar as variáveis e depois dividir cada bloco pela raiz quadrada de seu número de variáveis<sup>50</sup>.

Neste estudo, analisou-se quatro domínios de variáveis que foram denominadas: metabolismo do cortisol, minerais, controle glicêmico e estresse oxidativo. O presente estudo não foi apenas para

definir a ligação entre os quatro domínios acima, mas também para revelar as variáveis que mais participam de cada domínio sob a hipótese de que o metabolismo do cortisol influencia na deficiência de minerais e que essa deficiência pode impactar de alguma forma no controle glicêmico e no estresse oxidativo. Para aplicar o método KGCCA, foi utilizada a função de esquema centróide e a matriz de *design* totalmente conectada a partir da hipótese citada.

Também utilizou-se a análise de correlação canônica com kernel (KCCA) para determinar a correlação entre os domínios, sendo que a função kernel escolhida foi a gaussiana. A extensão não linear do KGCCA e KCCA torna o modelo mais complexo, portanto, não é possível formular estatísticas de teste com base na função não linear desconhecida. Assim, consideramos uma abordagem de teste de permutação para determinação dos p-valores. Além disso, definiu-se o número de amostras para o teste de permutação em 1.000. Empregou-se os pacotes RGCCA e kernlab do *software R version 4.2.2* (R CORE TEAM<sup>51</sup>) para processamento dessas análises.

## 5.4 Resultados

### 5.4.1 Caracterização antropométrica, bioquímica e dietética

Os valores médios e desvios padrão da idade e dos parâmetros antropométricos utilizados na avaliação do estado nutricional das participantes do estudo estão apresentados na tabela 1. Observa-se que houve diferença estatística entre os parâmetros antropométricos avaliados ( $p < 0,05$ ). O estudo não revelou diferença estatística significativa em relação aos parâmetros do controle glicêmico entre as mulheres com obesidade e grupo controle. Além disso, verificou-se valores elevados de triacilgliceróis, GPX e TBARS, e reduzidos de SOD nas mulheres com obesidade quando comparadas o grupo controle. Os resultados mostram diferença estatística significativa em relação à ingestão de magnésio e selênio entre os grupos avaliados (Tabela 1).

Parâmetros	Caso	Controle	p
	(n=80)	(n=94)	
	Média ± DP	Média ± DP	
Idade (anos)	33,75 ± 8,45	34,05 ± 8,84	0,804
Peso corporal (kg)	107,90 ± 16,47*	55,10 ± 5,76	<0,001
Estatura (m)	1,60 ± 0,06*	1,58 ± 0,06	0,016
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	41,90 ± 5,97*	22,01 ± 1,73	<0,001
CC (cm)	114,18 ± 12,66*	73,64 ± 5,02	<0,001
CQ (cm)	131,06 ± 11,57*	95,72 ± 4,82	<0,001
RCQ (cm)	0,87 ± 0,07*	0,77 ± 0,05	<0,001
Energia (Kcal)	1736,61 ± 663,19	1601,00 ± 440,08	0,122
Carboidratos (%)	50,79 ± 8,44	50,27 ± 7,65	0,363
Proteínas (%)	19,58 ± 4,93	19,30 ± 3,35	0,659
Lipídios (%)	29,63 ± 4,94	30,43 ± 6,05	0,346
Zn dietético (mg/dia)	10,74 ± 5,26	10,04 ± 3,37	0,964
Mg dietético (mg/dia)	175,12 ± 49,70*	157,38 ± 36,09	0,002
Se dietético (µg/dia)	136,02 ± 22,86*	67,57 ± 24,77	<0,001
Glicose (mg/dL)	84,52 ± 15,58	81,58 ± 11,90	0,406
Insulina (µU/mL)	11,50 ± 4,68	11,11 ± 4,07	0,891

Hemoglobina glicada (%)	5,17 ± 0,68	5,01 ± 0,40	0,175
HOMA-IR	2,50 ± 1,60	2,27 ± 0,96	0,811
SOD (U/gHb)	2206,68 ± 486,26*	2971,48 ± 630,30	<0,001
CAT (mmol.min-1.g-1/g Hb)	2,34 ± 1,16	2,44 ± 1,52	0,950
GPX (U/gHb)	44,30 ± 12,72*	39,87 ± 9,84	0,012
TBARS (nmol/mL)	5,95 ± 4,56*	1,26 ± 0,53	<0,001

**Tabela 1 - Valores médios e desvios padrão da idade, parâmetros antropométricos, consumo alimentar e marcadores bioquímicos das mulheres com obesidade e grupo controle.**

\*Valores significativamente diferentes entre as pacientes obesas e grupo controle, teste *t* de *Student* ou teste *Mann-Whitney* ( $p < 0,05$ ). IMC = índice de massa corpórea; DP = desvio padrão; CC = circunferência da cintura; CQ = circunferência do quadril; RCQ = relação cintura-circunferência do quadril; \*Valores significativamente diferentes entre as pacientes obesas e grupo controle, teste *t* de *Student* ou teste *Mann-Whitney* ( $p < 0,05$ ). DP = desvio padrão; HOMA-IR = *Homeostasis Model Assessment Insulin Resistance*;

#### 5.4.2 Análise de marcadores do metabolismo do cortisol

A tabela 2 apresenta os valores médios e desvios padrão dos marcadores do metabolismo do cortisol das mulheres com obesidade e grupo controle. Verificou-se que houve diferença estatística significativa entre os parâmetros avaliados.

Parâmetros	Caso	Controle	p
	(n=80) Média ± DP	(n=94) Média ± DP	
Cortisol sérico (µg/dL)	16,52 ± 9,22*	10,08 ± 5,36	<0,001
Cortisol urinário (µg/24h)	22,52 ± 14,22*	13,15 ± 7,24	<0,001
ACTH (pg/mL)	22,33 ± 13,76	21,55 ± 10,62	0,822
Cortisona urinária (µg/24h)	55,55 ± 31,90*	74,50 ± 36,98	0,001
CBG (µg/mL)	57,67 ± 13,92*	49,82 ± 6,67	<0,001
THF (mg/24h)	0,68 ± 0,15*	0,62 ± 0,10	0,009
THE (mg/24h)	1,90 ± 0,54*	2,17 ± 0,69	0,014
Cortisol/Cortisona	0,43 ± 0,19*	0,28 ± 0,56	<0,001
THF/THE	0,38 ± 0,11*	0,31 ± 0,11	<0,001
THF/Cortisol	0,04 ± 0,02*	0,06 ± 0,02	<0,001
THE/Cortisona	0,05 ± 0,03*	0,03 ± 0,02	0,009

**Tabela 2. Valores médios e desvios padrão dos marcadores do metabolismo do cortisol das mulheres com obesidade e grupo controle.**

\*Valores significativamente diferentes entre as pacientes obesas e grupo controle, teste *Mann-Whitney* ( $p < 0,05$ ). ACTH=hormônio adrenocorticotrófico; CBG= globulina ligadora do cortisol; THF: Tetrahydrocortisol; THE: Tetrahydrocortisona.

### 5.4.3 Avaliação do estado nutricional relativo ao zinco, selênio e magnésio

As mulheres com obesidade apresentaram concentrações plasmáticas e eritrocitárias de magnésio, selênio e zinco reduzidas, bem como valores elevados desses minerais na urina em relação ao grupo controle, conforme demonstra a tabela 3.

Parâmetros	Caso (n=80)	Controle (n=94)	P
	Média ± DP	Média ± DP	
Zn plasmático (µg/dL)	67,58 ± 5,57*	87,07 ± 11,25	<0,001
Zn eritrocitário (µgZn/gHb)	38,05 ± 5,16*	42,18 ± 3,62	<0,001
Zn urinário (µg/dia)	389,87 ± 172,21*	248,09 ± 129,95	<0,001
Se plasmático (µg/L)	59,94 ± 5,66*	79,50 ± 7,81	<0,001
Se eritrocitário (µg/gHb)	0,25 ± 0,03*	0,49 ± 0,16	<0,001
Se urinário (µg/dia)	63,88 ± 10,17*	37,03 ± 10,31	<0,001
Mg plasmático (mmol/L)	0,60 ± 0,10*	0,89 ± 0,10	<0,001
Mg eritrocitário (mmol/L)	1,50 ± 0,21*	3,52 ± 1,89	<0,001
Mg urinário (mmol/dia)	5,87 ± 2,44*	3,09 ± 0,70	<0,001

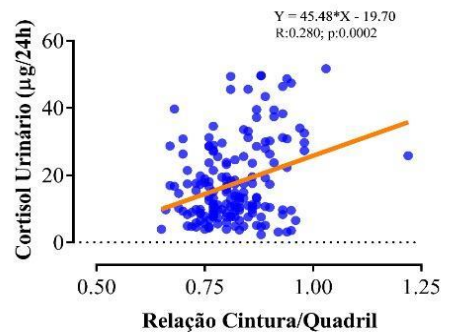
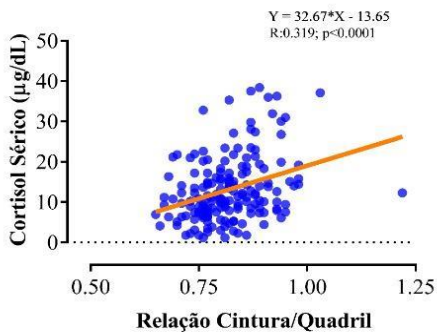
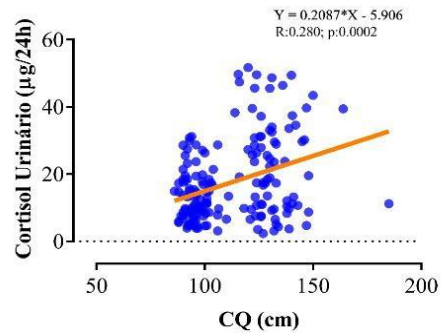
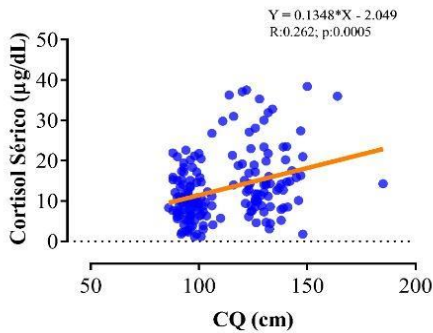
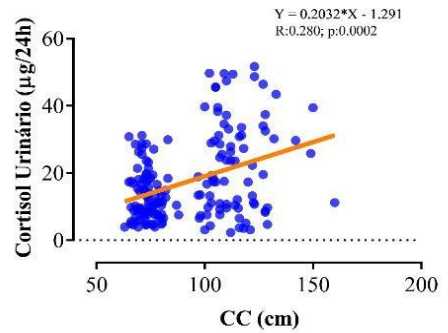
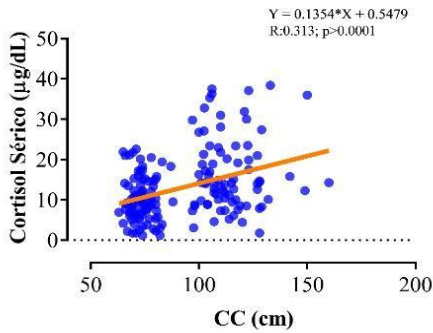
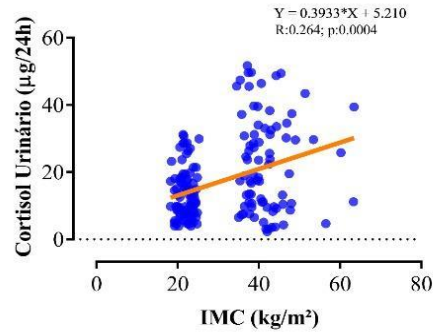
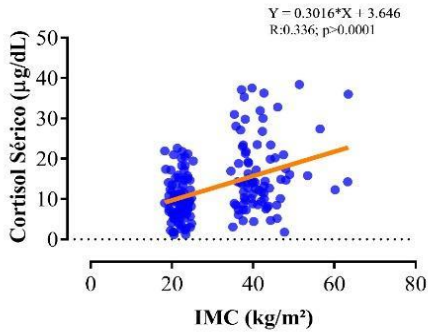
**Tabela 3 - Valores médios e desvios padrão das concentrações plasmáticas, eritrocitárias e urinárias de zinco, selênio e magnésio das mulheres com obesidade e grupo controle.**

\*Valores significativamente diferentes entre as pacientes obesas e grupo controle, teste *t* de Student ou teste *Mann-Whitney* ( $p < 0,05$ ). Zn= zinco; Se= selênio; Mg= magnésio.

#### 5.4.4 Relação entre parâmetros de adiposidade e marcadores do metabolismo do cortisol

A análise de correlação linear simples entre os parâmetros de adiposidade e marcadores do metabolismo do cortisol: cortisol sérico e urinário das participantes do estudo é apresentada na figura 1. Os resultados revelam correlação positiva significativa entre os todos os parâmetros antropométricos avaliados e o cortisol sérico e urinário.





**Figura 1. Análise de correlação linear simples entre parâmetros de adiposidade e as concentrações séricas e urinárias de cortisol.**

\*Coeficiente de correlação linear de Pearson ou Spearman ( $p < 0,05$ ).

#### 5.4.5 Relação entre marcadores do cortisol e minerais

A análise de correlação linear simples entre marcadores do metabolismo do cortisol e as concentrações plasmáticas, eritrocitárias e urinárias dos minerais das mulheres com obesidade é apresentada na tabela 4. Houve correlação positiva entre as concentrações urinárias de tetrahydrocortisona (THE) e o zinco e selênio plasmático, bem como com magnésio urinário. Os dados também evidenciaram correlação negativa entre a razão cortisol/cortisona e as concentrações eritrocitárias de zinco e selênio. Também se verificou correlação negativa entre as concentrações urinárias de cortisol e selênio eritrocitário, bem como correlação positiva entre as concentrações urinárias de cortisol, cortisol sérico e magnésio na urina. Não foram observados resultados significativos entre os marcadores do cortisol e minerais no grupo controle (dados não apresentados).

Parâmetros	Zn plasma	Zn Eritrócito	Zn urina	Se Plasma	Se Eritrócito	Se Urina	Mg Plasma	Mg Eritrócito	Mg Urina
	r	r	r	r	r	r	r	r	r
<b>Cortisol Sérico</b>	0,013	-0,192	-0,012	0,354	-0,201*	-0,171	-0,178	-0,217	0,371*
<b>Cortisol Urinário</b>	-0,201*	-0,317*	-0,191	0,005	0,005	0,015*	0,091	0,101	0,125*
<b>Cortisona Urinária</b>	-0,012	-0,003	-0,313	-0,052	0,152	0,364	0,048	0,194	0,049
<b>ACTH</b>	-0,226	-0,045	-0,252	-0,048	-0,013	0,098	0,130	0,175	0,226
<b>CGB</b>	0,002	-0,106	0,217	0,389	-0,129	-0,082	-0,213	-0,222	0,331
<b>THF</b>	-0,083	-0,187	-0,153	0,091	0,036	-0,064	0,038	0,029	0,175
<b>THE</b>	0,142	0,070	0,268	0,497*	0,099	-0,031	0,044	0,175	-0,157
<b>Cortisol/ Cortisona</b>	-0,043	-0,156*	0,085	0,055	-0,297*	0,197	0,089	-0,155	0,017
<b>THF/THE</b>	0,086	-0,192	0,072	0,095	-0,055	-0,399	-0,030	-0,184	0,160
<b>THF/ Cortisol</b>	0,067	0,126	0,182	0,028	-0,100	-0,018	-0,013	-0,203	-0,297
<b>THE/ Cortisona</b>	-0,003	-0,024	0,264	0,036	-0,154	-0,181	0,133	-0,157	-0,281

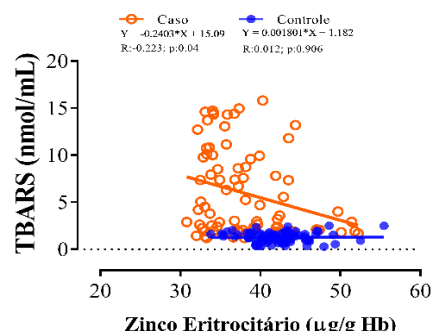
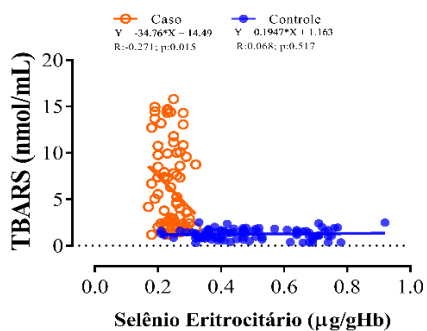
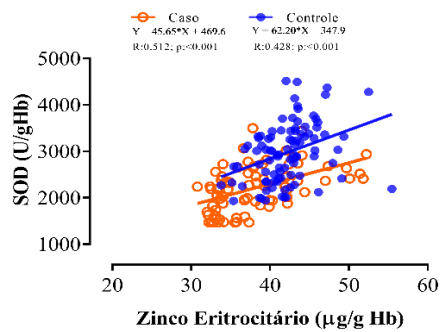
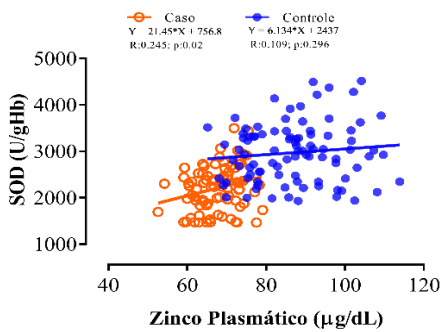
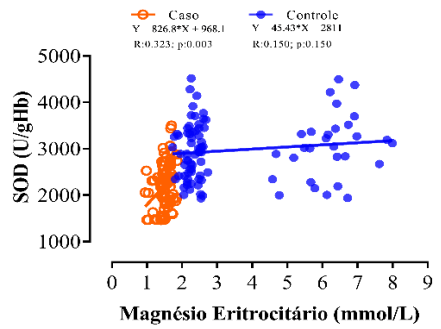
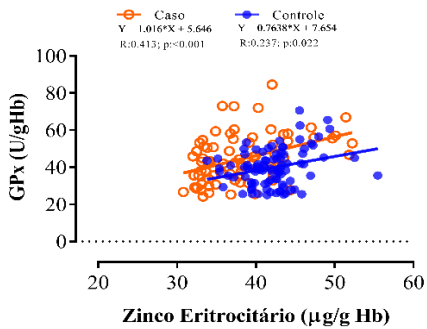
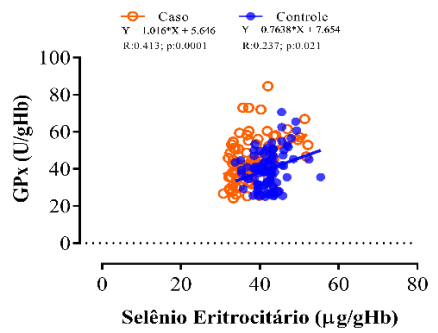
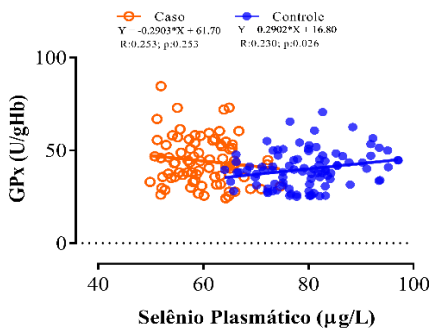
**Tabela 4 - Análise de correlação linear simples entre marcadores do metabolismo do cortisol e as concentrações plasmáticas, eritrocitárias e urinárias de zinco, selênio e magnésio das mulheres com obesidade.**

\* Coeficiente de correlação linear de *Pearson* ou *Spearman* ( $p < 0,05$ ).

#### 5.4.6 Relação entre marcadores do cortisol, minerais, resistência à insulina e estresse oxidativo

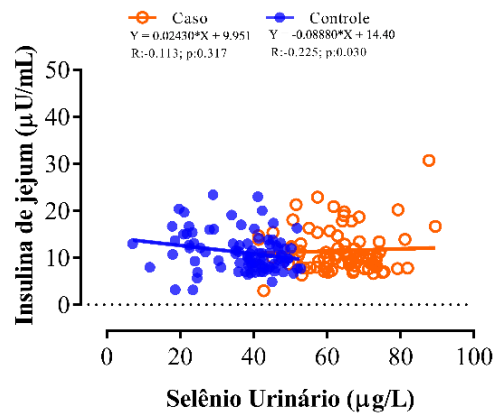
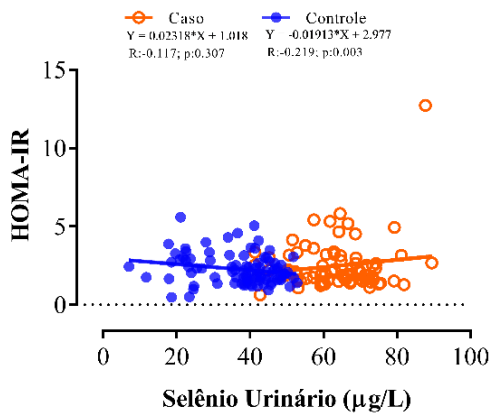
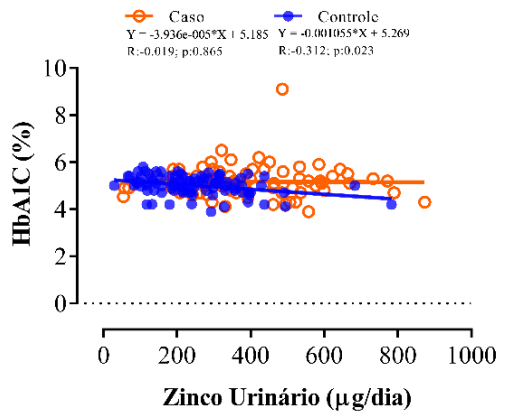
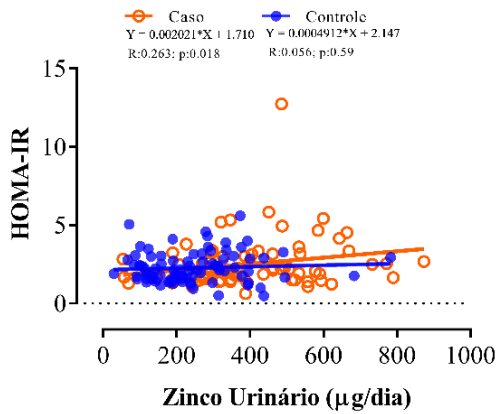
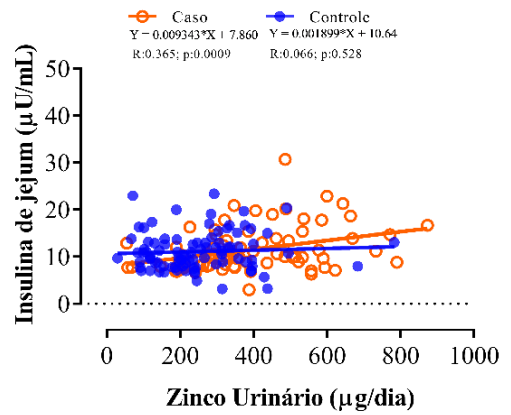
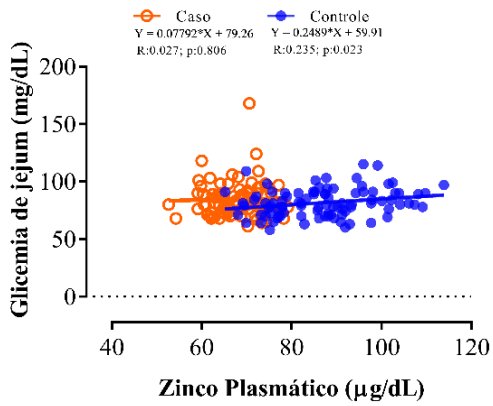
A figura 2 apresenta os resultados significativos da análise de correlação linear simples entre o magnésio, zinco e selênio e marcadores do estresse oxidativo das participantes do estudo. Os resultados revelam correlação positiva significativa entre a atividade da enzima glutathiona peroxidase, selênio e zinco nos eritrócitos, correlação positiva entre a atividade da enzima superóxido dismutase e as concentrações plasmáticas e eritrocitárias de zinco, bem como correlação negativa entre as concentrações de TBARS e as concentrações de zinco e selênio nos eritrócitos das mulheres com obesidade.

A figura 3 apresenta os resultados significativos da análise de correlação linear simples entre o magnésio, zinco e selênio e marcadores do controle glicêmico das participantes do estudo. Os resultados demonstram correlação positiva entre as concentrações séricas de insulina, HOMA-IR e as concentrações urinárias de zinco nas mulheres com obesidade. Os dados também revelam existência de correlação negativa entre as concentrações séricas de insulina, HOMA-IR e as concentrações urinárias de selênio das participantes do grupo controle, bem como correlação positiva entre as concentrações urinárias de zinco e glicemia de jejum dessas participantes.



**Figura 2. - Análise de correlação linear simples entre o magnésio, zinco e selênio e marcadores do estresse oxidativo das participantes do estudo.**

\* Coeficiente de correlação linear de *Pearson* ou *Spearman* ( $p < 0,05$ ).

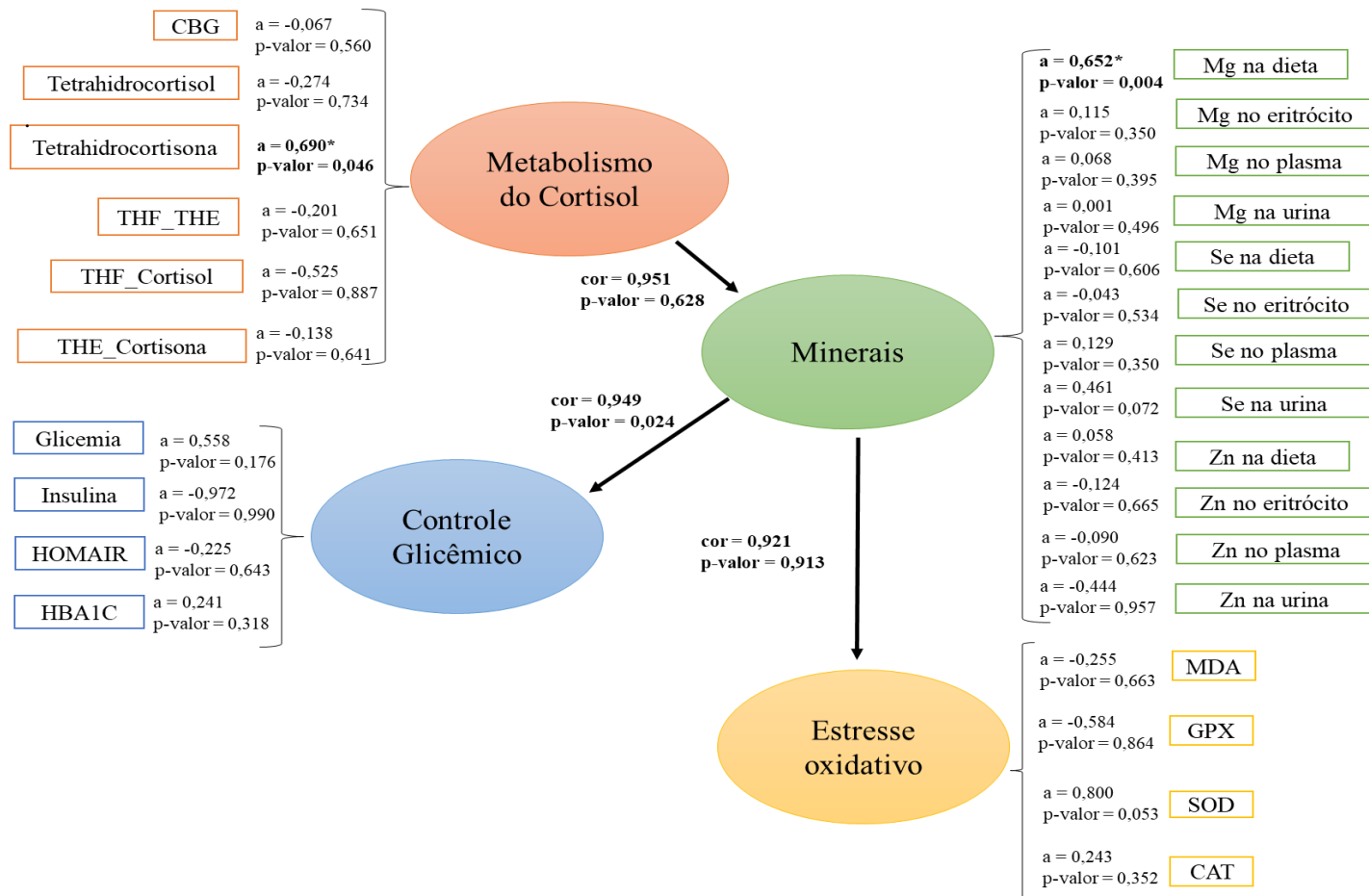


**Figura 3. - Análise de correlação linear simples entre minerais zinco e selênio e marcadores do controle glicêmico das participantes do estudo**

\* Coeficiente de correlação linear de *Pearson* ou *Spearman* ( $p < 0,05$ ).

A Figura 4 mostra a correlação entre os blocos para definir a ligação entre os quatro domínios: metabolismo do cortisol, minerais, controle glicêmico e estresse oxidativo e revelar as variáveis que mais participam de cada domínio sob a hipótese de que o metabolismo do cortisol influencia a deficiência de minerais e que essa deficiência pode impactar de alguma forma no controle glicêmico e no estresse oxidativo, sendo importante, portanto, para um melhor entendimento da relação entre tais variáveis.

Apesar de a correlação entre os marcadores do metabolismo do cortisol e do estado nutricional relativo aos minerais também não ser significativa, verificou-se que a tetrahydrocortisona é a variável do grupo que contribui de forma significativa para uma possível relação entre o metabolismo do cortisol e os minerais. No entanto, foi evidenciada correlação significativa entre parâmetros dos minerais e controle glicêmico ( $r = 0,949$  com  $p$ -valor  $0,024$ ), destacando-se que o magnésio na dieta contribui significativamente para a relação entre o grupo dos minerais e os demais grupos.



**Figura 4.** Diagrama da correlação canônica entre marcadores do metabolismo do cortisol, minerais e marcadores do controle glicêmico e estresse oxidativo das participantes do estudo.



## 5.5 Discussão

No presente estudo, foram avaliados marcadores do metabolismo do cortisol, as concentrações dos minerais magnésio, zinco e selênio, bem como foi investigada a associação entre estes parâmetros e o índice de resistência à insulina e marcadores do estresse oxidativo em mulheres com obesidade.

A avaliação dos parâmetros do metabolismo do cortisol revelou diferença estatística significativa entre todos os parâmetros entre os grupos avaliados, com exceção do ACTH. Os resultados mostram concentrações elevadas do cortisol no soro e na urina, bem como também revelam redução dos valores de cortisona urinária, tal fato demonstra a ocorrência de alterações no HPA nas mulheres com obesidade, provavelmente devido a ineficiência do cortisol sérico em inibir o hormônio liberador de corticotropina (CRH) e da adrenocorticotropina (ACTH), substâncias indutoras da secreção de cortisol<sup>3,52</sup>.

Associado a isso, esse resultado também pode ser ratificado pelo fato do estudo revelar aumento das razões THF/THE, cortisol/cortisona e cortisol/THF nas mulheres com obesidade, as quais refletem redução na atividade da enzima 11 $\beta$ -HSD tipo 2, demonstrando prejuízo na inativação do cortisol pela ação dessa enzima, o que reforça um possível comprometimento no mecanismo de *feedback* negativo do HPA, e conseqüentemente, alterações no metabolismo do cortisol<sup>53</sup>.

Os dados desse estudo demonstram existir correlação positiva entre os parâmetros de adiposidade e marcadores do metabolismo do cortisol, o que pode sugerir a influência da disfunção do tecido adiposo, caracterizada pela presença da inflamação crônica de baixo grau e do estresse oxidativo, fatores contribuintes importantes para a manifestação de alterações no metabolismo do cortisol.

Na perspectiva de avaliar a provável influência do cortisol na homeostase dos minerais zinco, magnésio e selênio nas participantes do estudo, conduziu-se análise de correlação que revelou resultado negativo entre as concentrações de cortisol na urina e os valores de zinco encontrados no plasma e eritrócitos. Além disso, foi verificada

correlação negativa entre a razão cortisol/cortisona e as concentrações de zinco eritrocitárias.

Sobre esse aspecto, o fato das concentrações elevadas de cortisol favorecer a expressão de genes codificantes para metalotioneína e para proteína transportadora de zinco ZIP-14, provavelmente seja o fator que contribuiu para a manifestação do quadro de hipozincemia verificado nas mulheres com obesidade avaliadas nesse estudo<sup>9</sup>.

O presente estudo também demonstrou correlação negativa entre as concentrações séricas de cortisol e a razão cortisol/cortisona e os valores de selênio nos eritrócitos, bem como correlação positiva entre as concentrações urinárias de cortisol e selênio na urina. Esse resultado reforça a influência do cortisol sobre a distribuição do selênio nos compartimentos biológicos avaliados, sendo tal fato em decorrência da ação do cortisol como agente estressor crônico do organismo, o que favorece aumento da demanda de nutrientes antioxidantes, como por exemplo o selênio.

Os dados da análise de correlação demonstraram resultado positivo entre o cortisol sérico e urinário e a concentração de magnésio na urina, sugerindo a atuação do cortisol, embora de forma indireta, sobre a excreção desse mineral em indivíduos com obesidade. Sobre este aspecto, destaca-se que o cortisol em concentrações elevadas, como ocorre na presença de disfunção do tecido adiposo, pode constituir fator contribuinte importante para aumentar a excreção urinária de magnésio, uma vez que esse hormônio favorece a produção excessiva de espécies reativas de oxigênio, contribuindo para acentuar o quadro de hipomagnesemia nas mulheres com obesidade avaliadas nesse estudo.

Por outro lado, a literatura mostra que a hipomagnesemia contribui para aumentar as concentrações de cortisol e de seus metabólitos no organismo, sendo que tal fato pode contribuir para justificar os valores elevados desse hormônio nas participantes com obesidade. É oportuno reforçar que em situações de concentrações adequadas de magnésio, esse mineral favorece a redução e liberação de ACTH, embora de forma indireta, o que conseqüentemente reduz a secreção de cortisol<sup>12</sup>.

Em relação ao zinco, estudos mostram que tanto altas quanto baixas concentrações desse mineral no soro promovem alterações na secreção adrenal<sup>54,55</sup>. No estudo de Chen et al.<sup>56</sup>, verificou-se que esse mineral inibe a ligação dos glicocorticoides ao seu receptor, pois existe uma região de ligação do zinco no receptor desses hormônios, diminuindo os efeitos do cortisol no organismo. Por outro lado, tem sido demonstrado que a deficiência de zinco na dieta pode ser um fator contribuinte para o aumento da secreção de cortisol, uma vez que a redução da concentração sérica desse nutriente aumenta a atividade do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal, seguida de um aumento da secreção desse glicocorticoide do córtex adrenal<sup>57,58</sup>.

A deficiência de selênio, por sua vez, pode contribuir para alterações na glândula adrenal, o que limita a síntese de cortisol. Este fato ocorre em decorrência da deficiência deste mineral, comprometendo a atividade da GPx, acentuando o estresse oxidativo na glândula adrenal<sup>59</sup>.

Nessa discussão, destaca-se que as concentrações dos minerais magnésio, selênio e zinco nos componentes sanguíneos estavam reduzidas nas mulheres com obesidade, o que possivelmente favoreceu a produção excessiva de espécies reativas, conforme verificado nos dados obtidos nesse estudo. Assim, os resultados desse estudo revelam a existência de correlação positiva entre as concentrações eritrocitárias de selênio e a atividade da enzima antioxidante superóxido dismutase. Além disso, também foi verificada correlação positiva entre as concentrações de selênio no plasma e a atividade da enzima glutathione peroxidase, o que demonstra o importante papel do selênio como centro ativo da enzima glutathione peroxidase. Assim, a deficiência em selênio altera a atividade dessas importantes enzimas antioxidantes, fato este confirmado nas associações identificadas no presente estudo.

A correlação positiva entre as concentrações plasmáticas e eritrocitárias de zinco e a atividade das enzimas antioxidantes superóxido dismutase e glutathione peroxidase, demonstra a importância dos valores adequados desse micronutriente na manutenção do sistema de defesa antioxidante. O zinco faz parte da estrutura da superóxido dismutase e regula a ativação do fator nuclear eritróide associado ao

fator 2 (Nrf2), que por sua vez, estimula a expressão de enzimas do sistema de defesa antioxidante, justificando a possível influência deste nutriente sobre as enzimas antioxidantes avaliadas<sup>60</sup>.

A deficiência em zinco em indivíduos com obesidade parece influenciar os parâmetros do controle glicêmico. Nesse estudo, foi verificada correlação positiva significativa entre a excreção urinária de zinco e os valores de insulina de jejum e HOMA-IR nas mulheres com obesidade. Sobre este dado, a redução de zinco nos componentes sanguíneos em decorrência da excreção elevada na urina pode ter limitado o controle glicêmico das participantes, visto que esse mineral participa da secreção de insulina e manutenção da homeostase glicêmica<sup>60-63</sup>. A deficiência de zinco contribui para a resistência à insulina, reduzindo a fosforilação da subunidade  $\beta$  do receptor de insulina e a ativação das proteínas PI3K e Akt. Assim, a deficiência do mineral reduz o transporte de glicose para o interior das células, favorecendo a hiperglicemia<sup>64,65</sup>.

Embora o estudo da associação entre magnésio, selênio e resistência à insulina não tenha revelado resultado significativo nas mulheres obesas avaliadas, é importante ressaltar que a deficiência de magnésio também reduz a autofosforilação da subunidade  $\beta$  do receptor de insulina e das enzimas AKT e PI3K, comprometendo a translocação do GLUT-4 para a membrana plasmática, favorecendo a hiperglicemia<sup>66</sup>. Além disso, o selênio é um mineral com importante papel na expressão do receptor do peptídeo semelhante ao glucagon nas células  $\beta$ , favorecendo a ação desse peptídeo no estímulo da expressão gênica da pró-insulina em resposta à ingestão de carboidratos e na regulação da fosforilação de substratos da cascata de sinalização da insulina<sup>67</sup>. Assim, a deficiência de selênio também pode favorecer a resistência à insulina.

Vale ressaltar que, embora as mulheres obesas consumam quantidades elevadas de magnésio e selênio quando comparadas ao grupo controle, os dados deste estudo mostram que esse fato não parece ter influenciado as concentrações sanguíneas desses minerais, uma vez que estas estavam reduzidas. Outro aspecto interessante diz respeito ao fato de o estudo não ter revelado a possível influência de valores tão

reduzidos desses minerais nos marcadores de resistência à insulina, uma vez que não foi evidenciada associação significativa.

Os resultados desse estudo permitem identificar a influência da adiposidade sobre o metabolismo do cortisol, o impacto desse hormônio na homeostase do zinco, selênio e magnésio. No entanto, os dados dessa pesquisa não sugerem que a influência do cortisol sobre a distribuição dos minerais analisados seja capaz de potencializar a resistência à insulina e o estresse oxidativo presente na obesidade. Nessa discussão, destaca-se a contribuição de fatores importantes que podem ter influenciado tais resultados como o controle glicêmico adequado das mulheres com obesidade. Além disso, outros fatores além da deficiência em minerais também são importantes para a manifestação do estresse oxidativo nesse grupo populacional.

É oportuno ressaltar que a avaliação da concentração de cortisol na urina de 24 horas e excreção de cortisona e de seus metabólitos, em particular, a determinação da atividade enzimática das enzimas 11 $\beta$ -HSD intracelulares e redutases do anel A, permite avaliar mecanismos subjacentes constituem marcadores relevantes na análise do metabolismo do cortisol, permitindo obter informações importantes sobre a sua regulação intracelular.

Algumas limitações deste estudo podem ser destacadas, por exemplo, a natureza transversal do estudo, a falta de dados sobre os níveis de selenoproteína P e concentrações de parâmetros inflamatórios, bem como marcadores moleculares que permitiram uma melhor discussão dos resultados encontrados em este estudo. Adicionalmente, a utilização de outros parâmetros para avaliar o estresse oxidativo neste estudo poderia ter contribuído para um melhor entendimento da ação dos minerais na redução das espécies reativas de oxigênio presentes na obesidade.

## **5.6 Conclusões**

As mulheres com obesidade avaliadas neste estudo apresentam desordens no metabolismo do cortisol, caracterizadas pelas

concentrações séricas e urinárias aumentadas, redução de cortisona urinária e da atividade da enzima  $11\beta$ -HSD 2.

O estudo demonstra a presença de alterações na homeostase dos minerais avaliados, como hipozincemia, hiposelenemia e hipomagnesemia. Além disso, as mulheres com obesidade também apresentam concentrações elevadas de TBARS, aumento da atividade da GPX e redução da SOD, sugerindo a presença de estresse oxidativo.

Os resultados do estudo sugerem a influência da adiposidade no aumento das concentrações de cortisol, o possível papel desse hormônio nas concentrações dos minerais zinco, selênio e magnésio em mulheres obesas. No entanto, o estudo de associação não permite identificar o impacto de tal atuação no sistema de defesa antioxidante e na sensibilidade à insulina.

## 5.7 Referências

1. Meyhöfer, S., Lautenbach, A., Serfling G. Obesity - a chronic disease requiring treatment. *Dtsch Med Wochenschr.*, **147**, 656-662 (2022).
2. Lechner, K. & Krauss, R. M . Obesity and cardiovascular disease: beyond body weight and energy balance. *Eur J Prev Cardiol.*, **29**, 2216-2217 (2022).
3. Lengton, R. et al. Variation in glucocorticoid sensitivity and the relation with obesity. *Obes Rev.*, **23**, e13401 (2022).
4. Herrada, A. A. Adipose tissue macrophages as a therapeutic target in obesity-associated diseases. *Obes. Rev.*, **22**, e13200 (2021).
5. Morais, J.B.S. et al. Adipose Tissue Dysfunction: Impact on Metabolic Changes? *Horm Metab Res.*, **54**, 785-794 (2022).
6. Czapla-Iskrzycka, A., Świątkowska-Stodulska, R., Sworczak, K. Comorbidities in Mild Autonomous Cortisol Secretion - A Clinical Review of Literature. *Exp Clin Endocrinol Diabetes.*, **130**, 567-576 (2022).
7. Kim, W. J et al. Sex-specific association of hair cortisol concentration with stress-related psychological factors in healthy young adults. *Biology of sex Differences.*, **12**, 1-7 (2021).
8. Schutten, J. C et al. Long-term magnesium supplementation improves glucocorticoid metabolism: A post-hoc analysis of an intervention trial. *Clin Endocrinol (Oxf)*, **94**, 150-157 (2021).

9. Noh, H., Paik, H. Y., Kim, J., Chung, J. The Changes of Zinc Transporter ZnT Gene Expression in Response to Zinc Supplementation in Obese Women. *Biological Trace Element Research.*, **162**, 38-45 (2014).
10. Reilly, S. M., & Saltiel, A. R. Adapting to obesity with adipose tissue inflammation. *Nat Rev Endocrinol.*, **13**, 633-643 (2017).
11. Gasmi, A et al. Micronutrients deficiencies in patients after bariatric surgery. *Eur J Nutr.*, **61**,55-67 (2022).
12. Pickering, G et al. Magnesium Status and Stress: The Vicious Circle Concept Revisited. *Nutrients.*, **28**,3672 (2020).
13. Kratschmar, D. V et al. Suppression of the Nrf2-dependent antioxidant response by glucocorticoids and 11 $\beta$ -HSD1-mediated glucocorticoid activation in hepatic cells. *PLoS one.*, **7**, e36774 (2012).
14. Torres, D. J., Alfulaij, N., Berry, M. J. Stress and the Brain: An Emerging Role for Selenium. *Front Neurosci.*, **15**, 666601 (2021).
15. Ministério da Saúde (Brasil). *Orientações para a coleta e análise de dados antropométricos em serviços de saúde: Norma Técnica do Sistema de Vigilância Alimentar e Nutricional – SISVAN.* (Ministério da Saúde, Brasília, 2011).
16. World Health Organization. *Waist circumference and waist-hip ratio: report of a WHO Expert Consultation.* (WHO Press, Geneva, 2008).
17. World Health Organization. *Obesity: preventing and managing the global epidemic e report of a WHO consultation.* (WHO Press, Geneva, 2000).



18. *Tabela Brasileira de Composição de Alimentos* (Brasil). (NEPAUNICAMP, Campinas, 2011).
19. Ferreira, K. S., Gomes, J. C., Bellato, C. R., & Jordão, C. P. Concentrações de selênio em alimentos consumidos no Brasil. *Rev. Panam. Salud Pública.*, **11**, 172e7 (2002).
20. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. *Pesquisa de Orçamentos Familiares 2008-2009: tabelas de composição nutricional dos alimentos consumidos no Brasil*. (IBGE, Rio de Janeiro, 2011).
21. US Department of Agriculture, Agricultural Research Service. Nutrient Data Laboratory. *USDA National Nutrient Database for Standard Reference*, Release 28 (Slightly revised). <http://www.ars.usda.gov/nea/bhnrc/mafcl> (2016).
22. Institute of Medicine (US). *Dietary Reference Intakes for Calcium, Phosphorus, Magnesium, Vitamin D and Fluoride*. (National Academies Press, Washington, 1997)
23. Institute of Medicine (US). Panel on Dietary Antioxidants and Related Compounds. *Dietary Reference Intakes for Vitamin C, Vitamin E, Selenium, and Carotenoids*. (National Academies Press, Washington, 2000).
24. Institute of Medicine (US). *Dietary Reference Intakes for Vitamin A, Vitamin K, Arsenic, Boron, Chromium, Copper, Iodine, Iron, Manganese, Molybdenum, Nickel, Silicon, Vanadium, and Zinc* (National Academies Press, Washington, 2001).
25. Haubrock, J et al. Estimating usual food intake distributions by using the multiple source method in the EPIC-Potsdam Calibration Study. *The Journal of Nutrition.*, **141**, 914-920 (2011).

26. Laureano, G et al. Comparison of the ISU, NCI, MSM, and SPADE Methods for Estimating Usual Intake: A Simulation Study of Nutrients Consumed Daily. *Nutrients.*, **8**, 166 (2016).
27. MSM. *Multiple Source Method (MSM) for estimating usual dietary intake from short-term measurement data: user guide.* EFCOVAL: Potsdam, (2011)..
28. Souverein, O. et al. Comparing four methods to estimate usual intake distributions. *Eur J Clin Nutr.*, **65**, S92-101 (2011).
29. Fisberg, R. M.; Marchioni, D. M. L.; Slater, B.; Martini, L. A. *Inquéritos alimentares: Métodos e Bases Científicas.* São Paulo: Manole (2005).
30. 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*, **26**, 11-18 (2003).
31. Willett, W. C., Howe, G. R., & Kushi, L. H. Adjustment for total energy intake in epidemiologic studies. *Am. J. Clin. Nutr.*, **65**, 1220Se31S (1997).
32. Elin, R. J. Assessment of magnesium status. *Clinical Chemistry.*, **33**, 1965-1970 (1987).
33. Topf, J. M. & Murray, P. T. Hypomagnesemia and hypermagnesemia. *Reviews in Endocrine and Metabolic Disorders.*, **4**, 195-206 (2003).
34. Tietz, N. W. *Clinical guide to laboratory test.* 3 ed. Philadelphia: W.B. (Saunders Company, 1995).
35. Gibson, R.S. *Assessment of chromium, copper and zinc status.* In: Gibson, R.S. *Principles of Nutritional Assessment.* (New York: Oxford University Press, 2005).

36. Guthrie, H. A. & Picciano, M. F. *Micronutrient minerals*. In: Guthrie, H. A & Picciano, M. F. *Human Nutrition* (1994).
37. Thomson, C. D. Assessment of Requirements for Selenium and Adequacy of Selenium Status: a review. *Eur J Clin Nutr.*, **58**, 391-402, (2004).
38. Vitoux, D., Arnaud, J., & Chappuis, P. Are copper, zinc and selenium in erythrocytes valuable biological indexes of nutrition and pathology? *J. Trace Elem. Med. Biol.*, **13**, 113e28 (1999).
39. Oster, O., & Prellwitz, W. The renal excretion of selenium. *Biol. Trace Elem. Res.*, **24**, 119-146 (1990).
40. American Diabetes Association. Classification and diagnosis of diabetes: Standards of Care in Diabetes—2023. *Diabetes Care*; **46**, S19–S40 (2023).
41. Matthews, D. R et al. Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia.*, **28**, 412-419 (1988).
42. Geloneze, B., et al. HOMA1-IR and HOMA2-IR indexes in identifying insulin resistance and metabolic syndrome: Brazilian Metabolic Syndrome Study (BRAMS). *Arq. Bras. Endocrinol. Metab.*, **53**, 281-287 (2009).
43. Paglia, D. E. & Valentine, W. N. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *Journal of Laboratory & Clinical Medicine.*, **70**, 159-69 (1967).

44. Aebi, H. Catalase in vitro. *Methods in Enzymology*, 105, 121-126, (1984).
45. Ohkawa, H., Ohishi, N., Yagi, K. Assay of lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Analytical Biochemistry.*, **95**, 351–358 (1979).
46. Nieman, L. K et al. The diagnosis of Cushing's syndrome: an endocrine society clinical practice guideline. *J Clin Endocrinol Metab.*, **93**, 1526-1540 (2008).
47. Little, R. J. A test of missing completely at random for multivariate data with missing values. *Journal of the American statistical Association*, **83**, 1198-1202 (1988).
48. Andreozzi, V. L. R *Function*. Disponível em:<[aleskaandreozzi.weebly.com/scripts-in-r.html](http://aleskaandreozzi.weebly.com/scripts-in-r.html)> (2013).
49. Tenenhaus, A., Philippe, C., Frouin, V. Kernel generalized canonical correlation analysis. *Comput Stat Data Anal.*, **90**, 114–131 (2015).
50. Westerhuis, J. A., Theodora Kourti, T., MacGregor, J. F. Analysis of multiblock and hierarchical PCA and PLS models. *Journal of Chemometrics.*, **12**: 301–21 (1998).
51. R Development Core Team R. *A Language and Environment for Statistical Computing*. (Vienna, Austria: the R Foundation for Statistical Computing, 2022).
52. Gathercole, L. L et al. Regulation of lipogenesis by glucocorticoids and insulin in human adipose tissue. *PloS one.*, **6**, e26223 (2011).
53. Bianzano, S., Schepers, C., Wolff, M., Heise, T., Plum-Moerschel, L. Selective Inhibition of 11beta-

Hydroxysteroiddehydrogenase-1 with BI 187004 in Patients with Type 2 Diabetes and Overweight or Obesity: Safety, Pharmacokinetics, and Pharmacodynamics After Multiple Dosing Over 14 Days. *Exp Clin Endocrinol Diabetes.*, **130**, 773-782 (2022).

54. Olechnowicz, J., Tinkov, A., Skalny, A., Suliburska, J. Zinc status is associated with inflammation, oxidative stress, lipid, and glucose metabolism. *J Physiol Sci.*, **68**, 19-31 (2018).
55. Ahn, J et al. Allyl isothiocyanate ameliorates insulin resistance through the regulation of mitochondrial function. *J Nutr Biochem.*, **25**, 1026-1034 (2014).
56. Chimienti, F. Zinc, pancreatic islet cell function and diabetes: new insights into an old story. *Nutr Res Ver.*, **26**, 1-11 (2013).

## 6 CONCLUSÕES

O primeiro artigo apresentado nesta tese abrangeu uma revisão narrativa sobre os mecanismos envolvidos na estrutura do tecido adiposo, expansibilidade do tecido, disfunção dos adipócitos, bem como o impacto desses eventos na manifestação de importantes distúrbios metabólicos associados à disfunção do tecido adiposo. As evidências obtidas por meio do estudo apontam que a capacidade limitada do tecido adiposo em armazenar o excesso de gordura, em particular no tecido adiposo subcutâneo, favorece o desenvolvimento de desordens metabólicas associada a obesidade, como a resistência à ação da insulina e dislipidemias

No segundo artigo desta tese foram atualizados os dados sobre os mecanismos envolvidos no papel do cortisol no desenvolvimento da resistência à insulina e no envolvimento do zinco como um micronutriente chave nessa alteração metabólica presente na obesidade. A partir dos dados obtidos por meio dessa revisão narrativa torna-se possível verificar alterações hormonais na obesidade, como por exemplo no metabolismo do cortisol e na ação da insulina, podem exercer repercussões relevantes no metabolismo do zinco.

O terceiro artigo desta tese trata de um estudo experimental que evidencia alterações no metabolismo cortisol em mulheres com obesidade, caracterizadas pelo aumento das concentrações desse hormônio no soro e na urina, e ainda, alterações nas concentrações dos metabólitos avaliados. Além disso, os resultados do estudo demonstram que as mulheres com obesidade apresentam desordens na homeostase dos minerais zinco, selênio e magnésio, com redução das concentrações desses minerais no plasma e eritrócitos concomitante ao aumento de suas excreções na urina.

Os resultados desse estudo permitem identificar a influência da adiposidade sobre o metabolismo do cortisol, o impacto desse hormônio na homeostase do zinco, selênio e magnésio. No entanto, os dados dessa pesquisa não sugerem que a influência do cortisol sobre a distribuição

dos minerais analisados seja capaz de potencializar a resistência à insulina e o estresse oxidativo presente na obesidade. Nessa discussão, destaca-se a contribuição de fatores importantes que podem ter influenciado tais resultados como o controle glicêmico adequado das mulheres com obesidade. Além disso, outros fatores além da deficiência em minerais também são importantes para a manifestação do estresse oxidativo nesse grupo populacional.

Assim, os principais achados verificados neste estudo observacional foram:

- A determinação dos marcadores do cortisol revela alterações no metabolismo desse hormônio, caracterizadas pelo aumento das concentrações séricas e urinárias de cortisol e tetrahydrocortisol, bem como redução dos valores urinários de cortisona e tetrahydrocortisona;
- O aumento das razões cortisol/cortisona, THF/THE, THE/Cortisona e redução da razão THF/Cortisol, permitiu estimar a redução da atividade das enzimas 11 $\beta$ -hidroxisteroide desidrogenase 2 e 5 $\beta$ -redutase nas mulheres com obesidade;
- O estudo aponta a existência de desregulação na homeostase dos minerais zinco, selênio e magnésio nas mulheres obesas, caracterizada por concentrações plasmáticas e eritrocitárias reduzidas, e valores urinários elevados;
- A avaliação dos parâmetros bioquímicos não revela a existência de alterações metabólicas relacionadas ao perfil glicêmico e resistência à ação da insulina nas mulheres com obesidade;
- O estudo evidencia a presença de estresse oxidativo nas mulheres com obesidade identificada por aumento das concentrações plasmáticas de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico e a atividade eritrocitária da enzima GPx e redução da atividade da enzima SOD.

## REFERÊNCIAS

1. Meyhöfer, S., Lautenbach, A., Serfling G. Obesity - a chronic disease requiring treatment. *Dtsch Med Wochenschr.*, **147**, 656-662 (2022).
2. Lechner, K. & Krauss, R. M. Obesity and cardiovascular disease: beyond body weight and energy balance. *Eur J Prev Cardiol.*, **29**, 2216-2217 (2022).
3. Lengton, R. et al. Variation in glucocorticoid sensitivity and the relation with obesity. *Obes Rev.*, **23**, e13401 (2022).
4. Herrada, A. A. Adipose tissue macrophages as a therapeutic target in obesity-associated diseases. *Obes. Rev.*, **22**, e13200 (2021).
5. Morais, J.B.S. et al. Adipose Tissue Dysfunction: Impact on Metabolic Changes? *Horm Metab Res.*, **54**, 785-794 (2022).
6. Czapla-Iskrzycka, A., Świątkowska-Stodulska, R., Sworczak, K. Comorbidities in Mild Autonomous Cortisol Secretion - A Clinical Review of Literature. *Exp Clin Endocrinol Diabetes.*, **130**, 567-576 (2022).
7. Kim, W. J et al. Sex-specific association of hair cortisol concentration with stress-related psychological factors in healthy young adults. *Biology of sex Differences.*, **12**, 1-7 (2021).
8. Schutten, J. C et al. Long-term magnesium supplementation improves glucocorticoid metabolism: A post-hoc analysis of an intervention trial. *Clin Endocrinol (Oxf).*, **94**, 150-157 (2021).



9. Noh, H., Paik, H. Y., Kim, J., Chung, J. The Changes of Zinc Transporter ZnT Gene Expression in Response to Zinc Supplementation in Obese Women. *Biological Trace Element Research.*, **162**, 38-45 (2014).
10. Reilly, S. M., & Saltiel, A. R. Adapting to obesity with adipose tissue inflammation. *Nat Rev Endocrinol.*, **13**, 633-643 (2017).
11. Gasmi, A et al. Micronutrients deficiencies in patients after bariatric surgery. *Eur J Nutr.*, **61**,55-67 (2022).
12. Pickering, G et al. Magnesium Status and Stress: The Vicious Circle Concept Revisited. *Nutrients.*, **28**,3672 (2020).
13. Kratschmar, D. V et al. Suppression of the Nrf2-dependent antioxidant response by glucocorticoids and 11 $\beta$ -HSD1-mediated glucocorticoid activation in hepatic cells. *PLoS one.*, **7**, e36774 (2012).
14. Torres, D. J., Alfulaij, N., Berry, M. J. Stress and the Brain: An Emerging Role for Selenium. *Front Neurosci.*, **15**, 666601 (2021).
15. Ministério da Saúde (Brasil). *Orientações para a coleta e análise de dados antropométricos em serviços de saúde: Norma Técnica do Sistema de Vigilância Alimentar e Nutricional – SISVAN.* (Ministério da Saúde, Brasília, 2011).
16. World Health Organization. *Waist circumference and waist-hip ratio: report of a WHO Expert Consultation.* (WHO Press, Geneva, 2008).
17. World Health Organization. *Obesity: preventing and managing the global epidemic e report of a WHO consultation.* (WHO Press, Geneva, 2000).

18. *Tabela Brasileira de Composição de Alimentos* (Brasil). (NEPAUNICAMP, Campinas, 2011).
19. Ferreira, K. S., Gomes, J. C., Bellato, C. R., & Jordão, C. P. Concentrações de selênio em alimentos consumidos no Brasil. *Rev. Panam. Salud Pública.*, **11**, 172e7 (2002).
20. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. *Pesquisa de Orçamentos Familiares 2008-2009: tabelas de composição nutricional dos alimentos consumidos no Brasil*. (IBGE, Rio de Janeiro, 2011).
21. US Department of Agriculture, Agricultural Research Service. Nutrient Data Laboratory. *USDA National Nutrient Database for Standard Reference*, Release 28 (Slightly revised). <http://www.ars.usda.gov/nea/bhnrc/mafcl> (2016).
22. Institute of Medicine (US). *Dietary Reference Intakes for Calcium, Phosphorus, Magnesium, Vitamin D and Fluoride*. (National Academies Press, Washington, 1997)
23. Institute of Medicine (US). Panel on Dietary Antioxidants and Related Compounds. *Dietary Reference Intakes for Vitamin C, Vitamin E, Selenium, and Carotenoids*. (National Academies Press, Washington, 2000).
24. Institute of Medicine (US). *Dietary Reference Intakes for Vitamin A, Vitamin K, Arsenic, Boron, Chromium, Copper, Iodine, Iron, Manganese, Molybdenum, Nickel, Silicon, Vanadium, and Zinc* (National Academies Press, Washington, 2001).
25. Haubrock, J et al. Estimating usual food intake distributions by using the multiple source method in the EPIC-Potsdam Calibration Study. *The Journal of Nutrition.*, **141**, 914-920 (2011).

26. Laureano, G et al. Comparison of the ISU, NCI, MSM, and SPADE Methods for Estimating Usual Intake: A Simulation Study of Nutrients Consumed Daily. *Nutrients.*, **8**, 166 (2016).
27. MSM. *Multiple Source Method (MSM) for estimating usual dietary intake from short-term measurement data: user guide.* EFCOVAL: Potsdam, (2011)..
28. Souverein, O. et al. Comparing four methods to estimate usual intake distributions. *Eur J Clin Nutr.*, **65**, S92-101 (2011).
29. Fisberg, R. M.; Marchioni, D. M. L.; Slater, B.; Martini, L. A. *Inquéritos alimentares: Métodos e Bases Científicas.* São Paulo: Manole (2005).
30. 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*, **26**, 11-18 (2003).
31. Willett, W. C., Howe, G. R., & Kushi, L. H. Adjustment for total energy intake in epidemiologic studies. *Am. J. Clin. Nutr.*, **65**, 1220Se31S (1997).
32. Elin, R. J. Assessment of magnesium status. *Clinical Chemistry.*, **33**, 1965-1970 (1987).
33. Topf, J. M. & Murray, P. T. Hypomagnesemia and hypermagnesemia. *Reviews in Endocrine and Metabolic Disorders.*, **4**, 195-206 (2003).
34. Tietz, N. W. *Clinical guide to laboratory test.* 3 ed. Philadelphia: W.B. (Saunders Company, 1995).
35. Gibson, R.S. *Assessment of chromium, copper and zinc status.* In: Gibson, R.S. *Principles of Nutritional Assessment.* (New York: Oxford University Press, 2005).

36. Guthrie, H. A. & Picciano, M. F. *Micronutrient minerals*. In: Guthrie, H. A & Picciano, M. F. *Human Nutrition* (1994).
37. Thomson, C. D. Assessment of Requirements for Selenium and Adequacy of Selenium Status: a review. *Eur J Clin Nutr.*, **58**, 391-402, (2004).
38. Vitoux, D., Arnaud, J., & Chappuis, P. Are copper, zinc and selenium in erythrocytes valuable biological indexes of nutrition and pathology? *J. Trace Elem. Med. Biol.*, **13**, 113e28 (1999).
39. Oster, O., & Prellwitz, W. The renal excretion of selenium. *Biol. Trace Elem. Res.*, **24**, 119-146 (1990).
40. American Diabetes Association. Classification and diagnosis of diabetes: Standards of Care in Diabetes—2023. *Diabetes Care*; **46**, S19–S40 (2023).
41. Matthews, D. R et al. Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia.*, **28**, 412-419 (1988).
42. Geloneze, B., et al. HOMA1-IR and HOMA2-IR indexes in identifying insulin resistance and metabolic syndrome: Brazilian Metabolic Syndrome Study (BRAMS). *Arq. Bras. Endocrinol. Metab.*, **53**, 281-287 (2009).
43. Paglia, D. E. & Valentine, W. N. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *Journal of Laboratory & Clinical Medicine.*, **70**, 159-69 (1967).

44. Aebi, H. Catalase in vitro. *Methods in Enzymology*, 105, 121-126, (1984).
45. Ohkawa, H., Ohishi, N., Yagi, K. Assay of lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Analytical Biochemistry.*, **95**, 351–358 (1979).
46. Nieman, L. K et al. The diagnosis of Cushing's syndrome: an endocrine society clinical practice guideline. *J Clin Endocrinol Metab.*, **93**, 1526-1540 (2008).
47. Little, R. J. A test of missing completely at random for multivariate data with missing values. *Journal of the American statistical Association*, **83**, 1198-1202 (1988).
48. Andreozzi, V. L. R *Function*. Disponível em:<[aleskaandreozzi.weebly.com/scripts-in-r.html](http://aleskaandreozzi.weebly.com/scripts-in-r.html)> (2013).
49. Tenenhaus, A., Philippe, C., Frouin, V. Kernel generalized canonical correlation analysis. *Comput Stat Data Anal.*, **90**, 114–131 (2015).
50. Westerhuis, J. A., Theodora Kourti, T., MacGregor, J. F. Analysis of multiblock and hierarchical PCA and PLS models. *Journal of Chemometrics.*, **12**: 301–21 (1998).
51. R Development Core Team R. *A Language and Environment for Statistical Computing*. (Vienna, Austria: the R Foundation for Statistical Computing, 2022).
52. Gathercole, L. L et al. Regulation of lipogenesis by glucocorticoids and insulin in human adipose tissue. *PloS one.*, **6**, e26223 (2011).
53. Bianzano, S., Schepers, C., Wolff, M., Heise, T., Plum-Moerschel, L. Selective Inhibition of 11beta-

Hydroxysteroiddehydrogenase-1 with BI 187004 in Patients with Type 2 Diabetes and Overweight or Obesity: Safety, Pharmacokinetics, and Pharmacodynamics After Multiple Dosing Over 14 Days. *Exp Clin Endocrinol Diabetes.*, **130**, 773-782 (2022).

54. Archer, T.K., Hager, G. L., Omichinski, J. G. Sequence-specific DNA binding by glucocorticoid receptor "zinc finger peptides". *Proc Natl Acad Sci USA.*, **87**, 7560–7564 (1990).
55. Brandão-Neto, J., Mendonça, B. B., Shuhama, T., Marchini, J. S., Pimenta, W. P., Tornero, M. T. T. Zinc acutely and temporarily inhibits adrenal cortisol secretion in humans. *Biol Trace Elem Res.*, **24**, 83-9 (1990).
56. Chen, D., Li, X., Zhai, Z., Shu, H. B. A novel zinc finger protein interacts with receptor-interacting protein (RIP) and inhibits tumor necrosis factor (TNF)- and IL1- induced NF-kappa B activation. *J Biol Chem.*, **277**, 15985- 15991 (2002).
57. Fraker, P. J., Osati-Ashtiani, F.; Wagner, M. A.; King, L. E. Possible roles for glucocorticoids and apoptosis in the suppression of lymphopoiesis during zinc deficiency: A review. *J Am Coll Nutr.*, **14**, 11–17 (1995).
58. Chimienti, F. (2013) Zinc, pancreatic islet cell function and diabetes: new insights into an old story. *Nutr Res Ver.*, **26**, 1-11 (2013).
59. Takeda, A., Tamano, H. Insight into zinc signaling from dietary zinc deficiency. *Brain research review*, **62**, 33- 44 (2009).

60. Chanoine, J., Wong, A. C. K., Lavoie, J. Selenium deficiency impairs corticosterone and leptin responses to adrenocorticotropin in the rat. *Biofactors*, **20**, 109-118 (2004).
61. 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*, **68**, 19-31 (2018).
62. AHN, J., LEE, H., IM, S. W., JUNG, C. H., & HA, T. Y. (2014). Allyl isothiocyanate ameliorates insulin resistance through the regulation of mitochondrial function. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 25(10), 1026-1034.
63. Ranasinghe, P.; Piger, S.; Galappathy, P.; Katulanda, P.; Constantine, G. R. Zinc and diabetes mellitus: understanding molecular mechanisms and clinical implications. *Daru*, **17**, 23-44 (2015).
64. Vardatsikos, G., Pandey, N.R., Srivastava, A.K. Insulinomimetic and anti-diabetic effects of zinc. *Journal of Inorganic Biochemistry*, **120**, 8-17 (2013).
65. Barbagallo, M., Dominguez, L. J. (2007) Magnesium metabolism in type 2 diabetes mellitus, metabolic syndrome and insulin resistance. *Arch Biochem Biophys*, 458(1), 40-47.
66. Fontenelle, L. C et al. The role of selenium in insulin resistance. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, **54** (2018).

# ANEXO 1 – PARECER CONSUBSTANCIADO DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA



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:** Dirlina 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 - Pr6-Reitoria de Pesquisa  
Bairro: Ininga CEP: 64.040-550  
UF: PI Município: TERESINA  
Telefone: (86)3237-2332 Fax: (86)3237-2332 E-mail: cep.ufpi@ufpi.edu.br





de imunoensayo por quimioluminescência. Os anticorpos tireoideanos antitreoperoxidase (TPOAb) e antitreoglobulina (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 Luminesx 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, metilotioneína, Zip 14, TNF-, IL-6, IL-1, IL-18, IL-10, TGF-, delodinasas, receptores de hormônios tireoideanos e de glicocorticoides, 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 tireoideanos, 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 - Prá-Reitoria de Pesquisa  
Bairro: Ininga CEP: 84.040-550  
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-, delodinasas, receptores de hormônios tireoidianos e de glicocorticoides, 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_BASICAS_DO_P PROJETO_885107.pdf	10/04/2017 16:26:00		Aceito

Endereço: Campus Universitário Ministro Petrólio Portella - Pró-Reitoria de Pesquisa  
Bairro: Tringa 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

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	TCLEEmorbidas.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	projetoecomitedeetica.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	Ulrna.docx	21/03/2017 14:48:58	Dilina do Nascimento Marreiro	Aceito
Outros	Registroatimentar.docx	21/03/2017 14:47:58	Dilina do Nascimento Marreiro	Aceito
Outros	Fichadecadastro.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	foihaderosto.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 Petrônio 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 Processo: 2.014.100

TERESINA, 12 de Abril de 2017

---

Assinado por:  
Herbert de Sousa Barbosa  
(Coordenador)

Endereço: Campus Universitário Ministro Petronio Portella - P16-Reitoria de Pesquisa  
Bairro: Ininga CEP: 64.040-550  
UF: PI Município: TERESINA  
Telefone: (86)3237-2352 Fax: (86)3237-2332 E-mail: cep.ufpi@ufpi.edu.br

Página 05 de 05

# APÊNDICE 1 – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

1 de 5



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO E CULTURA**  
**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ**  
**PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO**  
*Campus Universitário Ministro Petrônio Portella - Bairro Ininga – Teresina/PI CEP:*  
*64049-550 - Fone (86) 3215 5437.*

## TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

**Título do projeto:** Impacto de minerais em distúrbios endócrino-metabólicos

**Pesquisador responsável:** Dra. Dílina do Nascimento Marreiro

**Instituição/Departamento:** UFPI/ Departamento de Nutrição

**Telefone para contato (inclusive a cobrar):** (86) 98845-9778

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 pelo grupo de pesquisa do Laboratório de Nutrição Experimental (UFPI), sob orientação da Profa. Dra. Dílina 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 e/ou e-mail: cep.ufpi@ufpi.edu.br.

## DESCRIÇÃO DA PESQUISA

- I)** Esta pesquisa tem por objetivo avaliar o impacto de minerais em distúrbios endócrino-metabólicos em mulheres obesas.
- II)** Caso aceite participar da pesquisa, serão realizados os seguintes procedimentos: aferição do peso, estatura e circunferências (cintura, quadril e pescoço), aferição da pressão arterial.
- VIII)** Você não receberá compensação financeira por participação do estudo.

avaliação do consumo alimentar, coleta de sangue (30 mL) e coleta da urina de 24 horas. Não será realizada entrevista gravada ou filmada.

- III) O material biológico coletado (sangue e urina) será utilizado para a determinação das concentrações de minerais (zinco, selênio e magnésio); das concentrações dos hormônios cortisol, cortisona, ACTH, leptina e adiponectina; de marcadores do estresse oxidativo; da atividade de enzimas antioxidantes; de marcadores da inflamação; para avaliação da função tireoidiana, da função renal, do perfil lipídico, do controle glicêmico e da resistência à insulina; e para quantificação da expressão de genes envolvidos com os parâmetros acima citados.
- IV) Para a avaliação do consumo alimentar, será solicitado que você anote em um formulário os alimentos e suas quantidades consumidas em três dias durante uma semana. Para a coleta da urina de 24 horas, será solicitado que você colete sua urina durante o período de 24 horas (um dia e uma noite consecutivos) em um recipiente a ser fornecido pelos pesquisadores. Esses procedimentos não causarão dor e não acarretarão em nenhum risco ou prejuízo à participante.
- V) Na coleta de sangue (30 mL), 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.
- VI) A participação neste projeto não tem como objetivo fornecer assistência nutricional para manutenção ou perda de peso, mas sim contribuir no nosso entendimento sobre a influência dos minerais nos distúrbios endócrinometabólicos associados à obesidade.
- VII) Você não terá qualquer despesa financeira com relação aos procedimentos clínicos e laboratoriais efetuados no estudo.
- VIII) Você não receberá compensação financeira por participação do estudo.

- IX)** Você terá acesso aos resultados dos seus exames bioquímicos das amostras de sangue e de urina, que serão fornecidos após a realização dos mesmos pelos pesquisadores, além de orientação nutricional.
- X)** Você tem a liberdade de desistir ou de interromper a colaboração neste estudo no momento em que desejar, sem necessidade de qualquer explicação. A desistência não causará nenhum prejuízo à sua saúde ou bem estar físico.
- XI)** Seu nome, identidade e dados 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. No entanto, você deve concordar que os resultados obtidos nesta pesquisa sejam divulgados em publicações científicas (resumos de congressos, livros e artigos de periódicos científicos), desde que seus dados pessoais não sejam mencionados. Isso é importante para garantir que a pesquisa possa ser conhecida e possivelmente melhorar o diagnóstico, o atendimento e o tratamento de pacientes com obesidade.
- XII)** O material coletado poderá ser armazenado em soluções específicas para cada técnica, em freezer – 80°C, para manter a integridade das amostras e posterior utilização, sempre dentro da mesma linha de pesquisa. Após a utilização do material coletado para a pesquisa, caso haja material remanescente, este será incinerado (queimado) em local para descarte de material biológico humano.
- XIII)** Caso você desejar, poderá, pessoalmente, tomar conhecimento dos resultados ao final desta pesquisa:
- ( ) Desejo conhecer os resultados desta pesquisa.
- ( ) Não desejo conhecer os resultados desta pesquisa.
- XIV)** O projeto terá duração de quatro anos, com término previsto para o segundo semestre de 2020, e será desenvolvido na Universidade Federal do Piauí.
- XV)** 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 – PROPEAQ, CEP: 64.049-550, Teresina, Piauí, Brasil; telefone: (86) 3237-2332 e/ou e-mail: cep.ufpi@ufpi.edu.br). Este é o órgão que avalia a realização de pesquisas com pessoas e garante que a pesquisa da qual você participa seja de importância clínica e/ou científica e que está sendo conduzida de forma apropriada.



---

**Prof. Dra. Dilina do Nascimento Marreiro**

Pesquisadora responsável Departamento de Nutrição – UFPI



**CONSENTIMENTO DA PARTICIPAÇÃO DA PESSOA COMO SUJEITO**

Eu, \_\_\_\_\_.

RG \_\_\_\_\_, CPF \_\_\_\_\_, abaixo assinado, concordo em participar do estudo "Impacto de minerais em distúrbios endócrinometabólicos", como sujeito. Tive pleno conhecimento das informações que li ou que foram lidas para mim, descrevendo o estudo. Discuti com os pesquisadores 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 2 – FICHA DE CADASTRO



**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) Fumante? \_\_\_\_\_ Grávida ou Amamentando? \_\_\_\_\_

b) Menopausa: Sim ( ) Não ( ) Se sim, há \_\_\_\_\_ anos.

c) Uso de medicamentos: Sim ( ) Não ( ) Quais? \_\_\_\_\_

d) Consumo de Bebidas alcoólicas: Sim ( ) Não ( ) Frequência? \_\_\_\_\_

e) Uso de Suplementos: Sim ( ) Não ( ) Quais? \_\_\_\_\_

f) 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/m <sup>2</sup> )	
Circunferência da Cintura (cm)	
Circunferência do Quadril (cm)	
Circunferência do Pescoço (cm)	
Volume Urinário (mL)	
PAS	
PAD	

## APÊNDICE 3 – 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. Xicara – de chá ou de café
    3. Copo – grande ou de requeijão (americano)
    4. Prato de sobremesa
  5. Consumo mensal de óleo e sal da família:



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



Copo americano



G: Xicara cheia; H: Xicara nivelada; I: Xicara média

REGISTRO ALIMENTAR DE 3 DIAS - Nº \_\_\_\_\_

1º DIA

NÚMERO DO FORMULÁRIO: \_\_\_\_\_ Data \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

*Segunda ( ) Terça ( ) Quarta ( ) Quinta ( ) Sexta ( ) Sábado ( ) Domingo ( )*

REFEIÇÕES (Hora)	ALIMENTOS	QUANTIDADES (Medidas caseiras)	MARCA

REGISTRO ALIMENTAR DE 3 DIAS - Nº \_\_\_\_\_

2º DIA

NÚMERO DO FORMULÁRIO: \_\_\_\_\_ Data \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

*Segunda ( ) Terça ( ) Quarta ( ) Quinta ( ) Sexta ( ) Sábado ( ) Domingo ( )*

REFEIÇÕES (Hora)	ALIMENTOS	QUANTIDADES (Medidas caseiras)	MARCA

REGISTRO ALIMENTAR DE 3 DIAS - N° \_\_\_\_\_

3º DIA

NÚMERO DO FORMULÁRIO: \_\_\_\_\_ Data \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

*Segunda ( ) Terça ( ) Quarta ( ) Quinta ( ) Sexta ( ) Sábado ( ) Domingo ( )*

REFEIÇÕES (Hora)	ALIMENTOS	QUANTIDADES (Medidas caseiras)	MARCA

## APÊNDICE 4 – INSTRUÇÕES PARA COLETA 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 5 – ARTIGOS PUBLICADOS COMO AUTORA E  
COAUTORA DURANTE O PERÍODO DO DOUTORADO**

<b>TÍTULO</b>	<b>PERIÓDICO/ANO</b>	<b>AUTORES</b>
1. Participation of Magnesium in the Secretion and Signaling Pathways of Insulin: An Updated Review.	BIOLOGICAL TRACE ELEMENT RESEARCH (2002)	MELO, S. R. S; SANTOS, L. R; SOARES, T. C; CARDOSO, B. E. P.; DIAS, T. M. S.; <b>MORAIS, J. B. S.</b> ; SOUSA, M. P. ; SOUSA, T. G. V.; SILVA, N. C.; SILVA, L. D. ; CRUZ, K. J. C.; MARREIRO, D. N.
2. Antiviral and immunological activity of zinc and possible role in covid-19	BRITISH JOURNAL OF NUTRITION (2022)	MARREIRO, D.N.; CRUZ, K.J.C.; OLIVEIRA, A.R.S.; <b>MORAIS, J. B. S.</b> ; FREITAS, B. J. S. A.; MELO, S. R. S.; SANTOS, L. R.; CARDOSO, B.E.P.; DIAS, T.M.S
3. Dietary intake of vitamin d and its relation to an inflammatory marker in obese women	REVISTA BRASILEIRA DE OBESIDADE, NUTRIÇÃO E EMAGRECIMENTO (2022)	MELO, S. R. S; SANTOS, R. O; SANTOS, L. R.; OLIVEIRA, A. R. S.; CRUZ, K. J. C.; <b>MORAIS, J. B. S.</b> ; SEVERO, J. S.; SOUSA, T. G. V.; ARAUJO, D. S. C.; MARREIRO, D. N.
4. Leptin and its relationship with magnesium biomarkers in women with obesity	BIOMETALS (2022)	MELO, S. R. S; SANTOS, L. R; SOARES, T. C; <b>MORAIS, J. B. S.</b> ; CRUZ, K.J.C.; OLIVEIRA, A.R.S, CUNHA, N.; SOUSA, G. S.; PAYOLLA, T. B; BORDIN, S.; HENRIQUES, G. S.; MARREIRO, D.N.
5. Relationship between selenium nutritional status and markers of low-grade chronic	BIOLOGICAL TRACE ELEMENT RESEARCH (2022)	FONTENELLE, L.C.; SOUSA, M.P ; SANTOS, L. R.; CARDOSO, B. E. P.; SOUSA, T. G.V.; CUNHA, T.S.; MELO, S. R. S; <b>MORAIS, J. B. S</b> ; DA DIAS, T. M. S.; OLIVEIRA, F. E.; BRAZ, D. C.; CASTRO E SOUSA,



inflammation in obese women		J.M.; TORRES-LEAL, F. L.; HENRIQUES, G. S.; MARREIRO, D. N
6. Association between calcium/magnesium ratio and insulin resistance in obese women and normal-weight women	REVISTA CHILENA DE NUTRICION (2021)	CRUZ, K. J. C.; OLIVEIRA, A. R. S.; <b>MORAIS, J. B. S.</b> ; MELO, S. R. S.; SANTOS, L. R.; FONTENELLE, L. C.; SILVA, V.; COSTA, C. H. N.; SIMEONE, G. H.; MATOS NETO, E. M.; MARREIRO, D. N
7. Cardiovascular diseases in obesity: what is the role of magnesium?	BIOLOGICAL TRACE ELEMENT RESEARCH (2021)	SANTOS, L. R.; MELO, S. R. S.; SEVERO, J. S.; <b>MORAIS, J. B. S.</b> ; SILVA, L. D.; SOUSA, M. P.; SOUSA, T. G. V.; HENRIQUES, G. S.; MARREIRO, D. N.
8. Expressão das metaloproteinases 2 e 9 e concentrações plasmáticas de zinco em mulheres com fibroadenoma	REVISTA DA ASSOCIAÇÃO MÉDICA BRASILEIRA (2021)	MARTINS, L. M.; OLIVEIRA, A. R. S.; <b>MORAIS, J. B. S.</b> ; SILVA, B. B.; MARREIRO, D. N.
9. Magnesium nutritional status and its relationship to metabolism of thyroid hormones in obese women	INTERNATIONAL JOURNAL OF DEVELOPMENT RESEARCH (2021)	DIAS, T. M. S.; PEREIRA, B. E.; SOARES, T. C.; <b>MORAIS, J. B. S.</b> ; FONTENELLE, L. C.; SANTOS, L. R.; MELO, S. R. S.; PAIVA, M. S.; SOUSA, T. G. V.; OLIVEIRA, F. E.; SOUSA, G. S.; SIMEONE, G. H.; MARREIRO, D. N.
10. Magnesium parameters and their association with lipid metabolism markers in obese women	REVISTA CHILENA DE NUTRICION (2021)	SANTOS, L. R.; MELO, S. R. S.; SEVERO, J. S.; <b>MORAIS, J. B. S.</b> ; BESERRA, J. B.; FONTENELLE, L. C.; OLIVEIRA, A. R. S.; CRUZ, K. J. C.; SOUSA, M. P.; OLIVEIRA FE; SOUSA, G.S; HENRIQUES, G. S
11. No association between zinc and	INTERNATIONAL JOURNAL FOR VITAMIN	BESERRA, J. B.; <b>MORAIS, J. B. S.</b> ; SEVERO, J. S.; CRUZ, K. J. C.; OLIVEIRA, A. R. S.; OLIVEIRA, F.

thyroid activity in obese women	AND NUTRITION RESEARCH (2021)	E.; MATOS, E. M.; HENRIQUES, G. S.; MARREIRO, D. N.
12. Relation between zinc and thyroid hormones in humans: a systematic review	BIOLOGICAL TRACE ELEMENT RESEARCH (2021)	BESERRA, J. B.; <b>MORAIS, J. B. S.</b> ; SEVERO, J. S.; CRUZ, K. J. C.; OLIVEIRA, A. R. S.; HENRIQUES, G. S.; MARREIRO, D. N.
13. Selenium status and its relationship with thyroid hormones in obese women	CLINICAL NUTRITION ESPEN (2021)	FONTENELLE, L. C.; FEITOSA, M. M.; FREITAS, T. E. C.; SEVERO, J. S.; <b>MORAIS, J. B. S.</b> ; HENRIQUES, G. S.; OLIVEIRA, F. E.; MOITA NETO, J. M.; MARREIRO, D. N.
14. Selenium status and oxidative stress in obese: influence of adiposity	EUROPEAN JOURNAL OF CLINICAL INVESTIGATION (2021)	OLIVEIRA, A. R. S.; CRUZ, K. J. C.; <b>MORAIS, J. B. S.</b> ; SANTOS, L. R.; MELO, S. R. S.; FONTENELLE, L. C.; SOUSA, G. S.; MAIA, C. S. C.; ARAUJO, C. O. D.; MENDES, I. L.; SIMEONE, G. H.; SILVA, V.; MARREIRO, D. N.
15. Associação entre ingestão dietética de magnésio e parâmetros do perfil lipídico em mulheres obesas	RESEARCH, SOCIETY AND DEVELOPMENT (2020)	SOUSA, M. P.; CRUZ, K. J. C.; MARREIRO, D. N.; <b>MORAIS, J. B. S.</b> ; SANTOS, L. R.; MELO, S. R. S.; OLIVEIRA, A. R. S.; OLIVEIRA, F. E.; HENRIQUES, G. S.
16. Association between magnesium and oxidative stress in patients with obesity	CURRENT NUTRITION & FOOD SCIENCE (2020)	OLIVEIRA, A. R. S.; CRUZ, K. J. C.; <b>MORAIS, J. B. S.</b> ; SEVERO, J. S.; BESERRA, J. B.; SANTOS, L. R.; MELO, S. R. S.; SOUSA, L. A.; MATOS NETO, E. M.; FREITAS, B. J. E. S. A.; NOGUEIRA, N. N.; MARREIRO, D. N.
17. Biomarkers of cardiovascular risk in obese women and their relationship with zinc status	CURRENT NUTRITION AND FOOD SCIENCE (2020)	SEVERO, J. S.; <b>MORAIS, J. B. S.</b> ; BESERRA, J. B.; CLÍMACO CRUZ, KYRIA J.; OLIVEIRA, ANA R.S.; SANTOS, L. R.; DE MATOS NETO, E.M.; DE MACEDO, G. F.S.; FREITAS, B. J.S.A.; HENRIQUES, G. S.; MARREIRO, D. N.

18. Papel da vitamina e no estresse oxidativo em indivíduos obesos	REVISTA ELETRÔNICA - NUTRIÇÃO EM PAUTA (2020)	VALCARENGHI, T. Q. L.; BARROS, I. S.; SIMAO, R. A.; PAIVA, M. S. ; <b>MORAIS, J. B. S.</b> ; SEVERO, J. S. ; MARREIRO, D. N.
19. Relação da vitamina d sobre a inflamação na obesidade	RESEARCH, SOCIETY AND DEVELOPMENT(2020)	MELO, S.R.S.; SANTOS, R. O.; SANTOS, L. R.; <b>MORAIS, J. B. S.</b> ; SEVERO, J. S.; SOUSA, M. P.; CRUZ, K. J. C.; OLIVEIRA, A R.S.; MARREIRO, D.N.
20. Role of zinc in zinc- $\alpha$ 2-glycoprotein metabolism in obesity: a review of literature	BIOLOGICAL TRACE ELEMENT RESEARCH (2020)	SEVERO, J. S.; <b>MORAIS, J. B. S.</b> ; BESERRA, J. B.; SANTOS, L. R.; MELO, S. R. S.; MATOS NETO, E. M.; HENRIQUES, G. S.; MARREIRO, D. N.
21. Effect of zinc supplementation on lipid profile in obese people: a systematic review	CURRENT NUTRITION AND FOOD SCIENCE (2020)	SEVERO, J. S.; <b>MORAIS, J. B.S.</b> ; BESERRA, J.B.; DE FARIAS, L.M.; SANTOS, L.R.; MELO, STÉFANY, R.S.; NOGUEIRA, N.N.; MARREIRA, D. N
22. Ingestão de vitamina e na dieta e sua relação com marcadores do estresse oxidativo em mulheres obesas	REVISTA ELETRÔNICA - NUTRIÇÃO EM PAUTA (2019)	VALCARENGHI, T. Q. L.; BARROS, I. S.; PAIVA, M. S.; <b>MORAIS, J. B. S.</b> ; SEVERO, J. S.; BESERRA, J. B.; FEITOSA, M. M.; FONTENELLE, L. C.; MARREIRO, D. N
23. No difference in magnesium intake between obese women and healthy controls	INTERNATIONAL JOURNAL FOR VITAMIN AND NUTRITION RESEARCH (2020)	<b>MORAIS, J. B. S.</b> ; SEVERO, J. S.; FREITAS, T. E. C.; CRUZ, K. J. C.; OLIVEIRA, A. R. S.; COLLI, C ; MARREIRO, D. N.
24. The role of zinc in thyroid hormones metabolism	INTERNATIONAL JOURNAL FOR VITAMIN AND NUTRITION RESEARCH (2019)	SEVERO, J. S.; <b>MORAIS, J. B. S.</b> ; FREITAS, T. E. C. ; ANDRADE, A. L. P. ; FEITOSA, M. M. ; FONTENELLE, L. C. ; OLIVEIRA, A. R. S. ; CRUZ, K. J. C. ; MARREIRO, D.

25. Concentrações de cobre em mulheres obesas e sua relação com marcador da peroxidação lipídica	NUTRICIÓN CLÍNICA, DIETÉTICA HOSPITALARIA (2018)	BRITO, G. H. R.; TAJRA, V. E. F.; SANTOS, L. R.; MELO, S. R. S. ; <b>MORAIS, J. B. S.</b> ; SEVERO, J. S. ; HENRIQUES, G. S. ; MARREIRO, D. N
26. Magnesium in breast cancer: what is its influence on the progression of this disease?	BIOLOGICAL TRACE ELEMENT RESEARCH (2018))	MENDES, P. M. V.; BEZERRA, D. L. C.; SANTOS, L. R.; SANTOS, R. O.; MELO, S. R. S.; <b>MORAIS, J. B. S.</b> ; SEVERO, J. S.; VIEIRA, S. C ; MARREIRO, D. N.
27. No relation between zinc status and inflammatory biomarkers in adolescent judokas	INTERNATIONAL JOURNAL FOR VITAMIN AND NUTRITION RESEARCH (2018)	SOUSA, A. F.; MESQUITA, L. S. A.; CRUZ, K. J. C.; OLIVEIRA, A. R. S.; <b>MORAIS, J. B. S.</b> ; SEVERO, J. S.; BESERRA, J. B. ; NOGUEIRA, N. N. ; MARREIRO, D. N.
28. The role of selenium in insulin resistance.	BRAZILIAN JOURNAL OF PHARMACEUTICAL SCIENCES (2018)	FONTENELLE, L. C.; FEITOSA, M. M.; <b>MORAIS, J. B. S.</b> ; SEVERO, J. S.; FREITAS, T. E. C.; BESERRA, J. B.; HENRIQUES, G. S.; MARREIRO, D. N.
29. Zinc and insulin resistance: biochemical and molecular aspects.	BIOLOGICAL TRACE ELEMENT RESEARCH (2018)	CRUZ, K. J. C.; OLIVEIRA, A. R. S.; <b>MORAIS, J. B. S.</b> ; SEVERO, J. S. ; MENDES, P. M. V. ; MELO, S. R. S. ; SOUSA, G. S. ; Marreiro DN