UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DOS ALIMENTOS

ISABELA SARAIVA DE ALMEIDA

**Avaliação do estado nutricional de mulheres obesas em relação ao
zinco e sua associação com o estresse oxidativo e os
polimorfismos Arg213Gli e +35A/C**

São Paulo
2013

ISABELA SARAIVA DE ALMEIDA

Avaliação do estado nutricional de mulheres obesas em relação ao zinco
e sua associação com o estresse oxidativo e os polimorfismos Arg213Gli
e +35A/C

Dissertação apresentada ao Programa
de Pós-Graduação em Ciência dos
Alimentos da Universidade de São Paulo
para obtenção do grau de Mestre

Orientador: Profª Drª Silvia Maria
Franciscato Cozzolino

São Paulo

2013

Ficha Catalográfica
Elaborada pela Divisão de Biblioteca e
Documentação do Conjunto das Químicas da USP.

	Almeida, Isabela Saraiva de
A447a	Avaliação do estado nutricional de mulheres obesas em relação ao zinco e sua associação com o estresse oxidativo e os polimorfismos Arg213Gli e +35A/C / Isabela Saraiva de Almeida. -- São Paulo, 2013. 96p.
	Dissertação (mestrado) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo. Departamento de Alimentos e Nutrição Experimental.
	Orientador: Cozzolino, Silvia Maria Franciscato
	1. Nutrição : Ciência dos alimentos 2. Obesidade : Nutrição : Doenças metabólicas 3. Zinco : Avaliação nutricional : Ciência dos alimentos I. T. II. Cozzolino, Silvia Maria Franciscato, orientador.
	641.1 CDD

ALMEIDA, I. S. Avaliação do estado nutricional de mulheres obesas em relação ao zinco e sua associação com o estresse oxidativo e os polimorfismos Arg213Gln e +35A/C. Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos da Universidade de São Paulo para obtenção do grau de Mestre.

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____ Instituição: _____
Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____ Instituição: _____
Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____ Instituição: _____
Julgamento: _____ Assinatura: _____

*Aos meus pais, que me passaram
valores e virtudes, que me ensinaram
o certo e o errado e que sempre
acreditaram em mim.*

AGRADECIMENTOS

Às voluntárias que participaram desse estudo: muito obrigada!

À professora Silvia Cozzolino, pela oportunidade, por ter me recebido de braços abertos em seu laboratório, pela sabedoria, carinho e ensinamentos passados tão generosamente.

À professora Carla Soraya, que acreditou em mim e me incentivou nessa jornada. Serei sempre grata.

À professora Célia Colli, pelo carinho com que sempre me tratou desde a seleção para o Mestrado, e pelos ensinamentos e experiências passados durante o PAE.

Aos amigos do Laboratório de Nutrição e Minerais da FCF/USP pelo acolhimento e pelos ensinamentos compartilhados: Alexandre Pimentel, Arianne Rocha, Barbara Cardoso, Bruna Zavarize, Graziela Biude, Janaina Lombelo, Kaluce Almondes, Katia Callou, Larissa Bezerra, Leila Hashimoto, Liliane Pires, Luciane Alencar, Verônica Bandeira. Vocês foram fundamentais!

Ao Dr. Alfredo Halpern, que acreditou em nosso projeto e abriu as portas do Hospital das Clínicas da USP para a realização do estudo.

Aos funcionários do setor de Endocrinologia e Metabologia do Hospital das Clínicas da USP, em especial à Roseli, Marilda e Rosana, pelo auxílio durante as coletas e pela ajuda em conseguir novas participantes.

À professora Ana Paula e à mestranda Fabiana Almeida, da FCF-USP, que nos disponibilizaram seu laboratório e conhecimentos nas análises de malondialdeído.

Aos amigos de Pós-Graduação: Ana Lina Sales, Ana Mara Silva, Cristiane Hermes, Eduardo de Carlí, Eliana Mazzini, Fernanda Brunacci, Fernanda Shinagawa,

Fernanda Santana, Gabriela Santos, Jéssica Silva, Laila Sangaletti, Maria Cecilia Sanchez, Pryscilla Teixeira, Viviane Rocha.

Aos funcionários da FCF-USP que auxiliaram indiretamente na realização desse trabalho: Edílson Feitosa, Cleonice Estrela, Majô, Maria de Lourdes Pedroza, Mônica Perussi, Roberta Uehara.

À família adotiva, tia Regina, tio Edson, Fê e Ká, que me acolheram como filha e irmã, que foram essenciais na adaptação à velha nova cidade e tornaram meus finais de semana mais alegres.

Aos meus pais, Paulo e Nádia, sempre presentes em minha vida.

À minha irmã, Ticiane, pelo apoio e amor incondicionais.

Ao Luiz Guilherme, que apesar da distância, apoiou desde o começo minha decisão e conseguiu tornar tudo mais fácil.

À minha irmã de coração, Jheyne, por sua amizade sincera.

RESUMO

ALMEIDA, I. S. **Avaliação do estado nutricional de mulheres obesas em relação ao zinco e sua associação com o estresse oxidativo e os polimorfismos Arg213Gli e +35A/C**. 2014. 96 f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2013.

O objetivo desse trabalho foi avaliar o estado nutricional de mulheres obesas em relação ao zinco (Zn) e a associação com marcadores do estresse oxidativo e com polimorfismos em genes das enzimas antioxidantes SOD1 e SOD3. A amostra foi composta por 60 mulheres obesas (OB) e por um grupo controle composto por 55 mulheres eutróficas (CON). Amostras de sangue e urina de 24 horas foram coletadas para análise de zinco, malondialdeído (MDA), 8-isoprostano urinário, atividade antioxidante das enzimas superóxido dismutase (SOD) e glutathione peroxidase (GPx). Foram avaliados dois polimorfismos de nucleotídeo único (SNP) presentes nas enzimas SOD1 e SOD3, o +35A/C e Arg213Gli. Foram aplicados três recordatórios alimentares de 24 horas, incluindo um dia de final de semana. As comparações entre os grupos foram feitas pelos testes qui-quadrado, t-Student, ANOVA e Mann-Whitney. As associações entre as variáveis quantitativas foram realizadas por meio do coeficiente de correlação r de Pearson. Modelo de regressão linear multivariada *backward* foi feito a fim de se analisar as regressões das variáveis desfecho zinco plasmático, MDA e 8-isoprostano. O equilíbrio de Hardy-Weinberg foi calculado pelo teste do qui-quadrado. A média da ingestão de zinco foi de 6,8 mg/dia e 7,4 mg/dia no grupo CON e OB, respectivamente. As concentrações de Zn plasmático e eritrocitário e a atividade das enzimas SOD e GPx não apresentaram diferença entre os grupos. Ambos os grupos apresentaram deficiência no Zn plasmático. As concentrações de MDA e 8-isoprostano foram maiores no grupo CON, enquanto as concentrações de creatinina e Zn urinários foram maiores no grupo OB. No grupo CON, foram verificadas associações negativas entre Zn plasmático e MDA ($p=0,002$) e glicemia ($p<0,0001$). A regressão multivariada mostrou correlação negativa entre o Zn plasmático e o MDA. O 8-isoprostano sofreu influência negativa da creatinina urinária e positiva da atividade física. Já a glicemia e o consumo de energia e de lipídio apresentaram correlação positiva com o MDA. Na análise dos SNPs, foram encontradas apenas duas participantes heterozigotas para o SNP +35A/C e nenhuma participante com o alelo variante para o SNP Arg213Gli. Concluiu-se que os indivíduos obesos e eutróficos apresentaram deficiência de Zn, o que pode estar relacionado ao estresse oxidativo. O estresse oxidativo foi mais intenso para o grupo controle e não foi observada associação entre o IMC e os marcadores MDA e 8-isoprostano. Não foi possível fazer correlação dos polimorfismos com os parâmetros avaliados.

Palavras-chave: micronutrientes; obesidade; estresse oxidativo; superóxido dismutase.

ABSTRACT

ALMEIDA, I. S. **Assessment of nutritional zinc status and its association with oxidative stress and Arg213Gly and +35A/C polymorphisms in obese women.** 2014. 96 f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2014.

The aim of this study was to assess the nutritional zinc status and its association with oxidative stress markers and with polymorphisms in genes of SOD1 and SOD3 in obese women. The sample consisted of 60 obese women (OB) and a control group of 55 normal-weight women (CON). Blood samples and 24-hour urine were collected for analysis of zinc, malondialdehyde (MDA), urinary 8-isoprostane, antioxidant activity of superoxide dismutase (SOD) and glutathione peroxidase (GPx). Two single nucleotide polymorphisms (SNP) were evaluated in the genes of *SOD1* and *SOD3* enzymes, +35A/C and Arg213Gly. Three food 24-hour recalls, including one weekend day were applied. Comparisons between groups were made by chi-square test, Student's t - test, ANOVA and Mann-Whitney. Associations between means of quantitative variables were performed by the correlation coefficient *r* of Pearson. Backward multivariate linear regression was done in order to analyze the regressions of outcome variables plasma zinc, MDA and 8-isoprostane. The Hardy-Weinberg equilibrium was calculated by chi-square. The mean zinc intake was 6.8 mg/day and 7.4 mg/day in CON and OB groups, respectively. Concentrations of plasma and erythrocyte Zn and activity of SOD and GPx enzymes showed no difference between groups. Both groups showed a deficiency in plasma Zn. The concentrations of MDA and 8-isoprostane were higher in the CON group, whereas the concentrations of creatinine and urinary Zn were higher in the OB group. In the CON group, negative associations between plasma Zn and MDA ($p = 0.002$) and glucose ($p < 0.0001$) were observed. Multivariate regression analysis showed a negative correlation between plasma Zn and MDA. The 8-isoprostane suffered negative influence of urinary creatinine and positive influence of physical activity. Blood sugar and energy and lipid consumption showed a positive correlation with MDA. In the analysis of SNPs, were found only two heterozygous participants for the SNP +35A/C and no participant with the variant allele for the SNP Arg213Gly. It was concluded that obese and normal subjects showed Zn deficiency, which may be related to oxidative stress. Oxidative stress was higher in the control group and no association was observed between BMI and MDA and 8-isoprostane markers. It was not possible to correlate polymorphisms with evaluated parameters.

Keywords: micronutrients; obesity; oxidative stress; superoxide dismutase.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.	Valores da razão D/DPd e a probabilidade da ingestão alimentar estar adequada ou inadequada. São Paulo, 2013.....	38
Tabela 2.	Análise da homogeneidade dos grupos OB e CON. São Paulo, 2013.....	47
Tabela 3.	Medidas antropométricas e percentual de gordura dos grupos OB e CON. São Paulo, 2013.....	48
Tabela 4.	Medidas antropométricas e percentual de gordura dos grupos OB1, OB2 e OB3. São Paulo, 2013.....	49
Tabela 5.	Comparações múltiplas de medidas antropométricas e percentual de gordura dos grupos OB1, OB2 e OB3. São Paulo, 2013.....	49
Tabela 6.	Consumo de energia, macronutrientes e zinco dos grupos OB e CON. São Paulo, 2013.....	50
Tabela 7.	Contribuição energética dos nutrientes da dieta dos grupos OB e CON. São Paulo, 2013.....	50
Tabela 8.	Concentrações de zinco plasmático, eritrocitário e urinário, atividade das enzimas SOD e GPx, concentrações de MDA no plasma, 8-isoprostano e creatinina na urina dos grupos OB e CON. São Paulo, 2013.....	52
Tabela 9.	Concentrações séricas de colesterol total e frações e de glicemia dos grupos OB e CON. São Paulo, 2013.....	54
Tabela 10.	Concentrações de zinco plasmático, eritrocitário e urinário, atividade das enzimas SOD e GPx, concentrações de MDA no plasma, 8-isoprostano e creatinina na urina, colesterol total e frações e glicemia dos grupos OB1, OB2 e OB3. São Paulo, 2013.....	55
Tabela 11.	Análise de regressão linear utilizando o zinco plasmático como variável dependente. São Paulo, 2013.....	57
Tabela 12.	Análise de regressão linear utilizando a enzima GPx como variável dependente. São Paulo, 2013.....	57
Tabela 13.	Distribuição dos polimorfismos +35A/C e Arg213Gli entre mulheres obesas e eutróficas. São Paulo, 2013.....	58

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.	Relação dos fatores pro e antioxidantes no estresse oxidativo presente na obesidade.....	20
Figura 2.	Proteínas transportadoras de zinco nas células, ZnT e ZIP.....	24
Figura 3.	Esquema representativo da absorção, transporte e excreção do zinco.....	25
Figura 4.	Mecanismo de ação da enzima SOD.....	29
Figura 5.	Localização celular das três isoformas da enzima SOD.....	30
Figura 6.	Fluxograma das atividades do estudo.....	36
Figura 7.	Histograma da ingestão bruta e ajustada de Zn e prevalência de inadequação da ingestão no grupo OB (n = 53).....	51
Figura 8.	Histograma da ingestão bruta e ajustada de Zn e prevalência de inadequação da ingestão no grupo CON (n = 40).....	51
Figura 9.	Adequação individual da ingestão alimentar de Zn dos grupos OB e CON. São Paulo, 2013.....	52
Figura 10.	<i>Status</i> de zinco dos grupos OB e CON. São Paulo, 2013.....	53
Figura 11.	Concentrações de 8-isoprostano e MDA dos grupos OB e CON. São Paulo, 2013.....	54
Figura 12.	Correlação entre zinco plasmático e MDA no grupo CON. São Paulo, 2013.....	55
Figura 13.	Correlação entre zinco plasmático e glicemia no grupo CON. São Paulo, 2013.....	56
Figura 14.	Correlação entre ingestão dietética de zinco e zinco plasmático no grupo OB. São Paulo, 2013.....	56

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ARE	Elementos de Resposta Antioxidante
BHT	Butil-hidroxi-tolueno
CC	Circunferência da Cintura
CuZn-SOD	Cobre-Zinco Superóxido Dismutase
D	Diferença
DNA	Ácido desoxirribonucleico
DPd	Desvio Padrão da Diferença
DRIs	<i>Dietary Reference Intakes</i>
EAR	Necessidade Média Estimada
EC-SOD	Superóxido Extracelular
ELISA	<i>Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay</i>
ENO's	Espécies Reativas de Nitrogênio
ERO's	Espécies Reativas de Oxigênio
FTO	<i>Fat Mass and Obesity Associated</i>
GLP-1	Peptídeo Semelhante ao Glucagon
GPx	Glutathione Peroxidase
HDL	Lipoproteína de Alta Densidade
HPLC	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
H₂O₂	Peróxido de Hidrogênio
IFN-γ	Interferon- γ
IGF	Fator de Crescimento Semelhante à Insulina
IMC	Índice de Massa Corporal
IL-6	Interleucina 6
IL-8	Interleucina 8
IR	Receptor de Insulina
KI	Iodeto de Potássio
LDL	Lipoproteína de Baixa Densidade
LPS	Endotoxina Lipopolissacarídeo
MC4R	Melanocortina tipo 4
MDA	Malondialdeído
Mn-SOD	Manganês-Superóxido Dismutase
MTF1	Fator de Transcrição do Elemento de Resposta a Metais
NADH	Dinucleotídeo de Nicotinamida Adenina

NADH⁺	Dinucleotídio de Nicotinamida Adenina Oxidado
NADPH	Dinucleotídio de Nicotinamida Adenina Reduzido
NAOH	Hidróxido de Sódio
NF-κB	Fator Nuclear Kappa B
NK	<i>Natural Killer</i>
NO	Óxido Nítrico
NPY	Neuropeptídeo Y
O₂	Oxigênio
O₂⁻	Ânion Superóxido
OH⁻	Radical hidroxila
ONOO⁻	Peroxinitrito
PCR	<i>Polymerase Chain Reaction</i>
PPAR	Receptores Ativados por Proliferadores de Peroxissoma
RNA	Ácido Ribonucleico
RT-PCR	<i>Real Time Polymerase Chain Reaction</i>
SNP	<i>Single Nucleotide Polymorphism</i>
SOD	Superóxido Dismutase
TNF-α	Fator de Necrose Tumoral α
SLC	Transportador Ligado ao Solute
TBA	Ácido Tiobarbitúrico
TCA	Ácido Tricloro Acético
Zn	Zinco
Zn²⁺	Íon Zinco

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	15
2	REVISÃO DE LITERATURA.....	17
2.1	Obesidade e estresse oxidativo.....	17
2.2	Zinco.....	21
2.3	Estado nutricional de zinco na obesidade.....	26
2.4	Enzimas superóxido dismutase e polimorfismos +35A/C e Arg213Gli.....	29
3	HIPÓTESES.....	33
4	OBJETIVOS.....	33
4.1	Geral.....	33
4.2	Específicos.....	33
5	CASUÍSTICA E MÉTODOS.....	34
5.1	Tipo de estudo.....	34
5.2	Definição da amostra.....	34
5.3	Critérios de inclusão.....	35
5.4	Procedimentos para coleta de dados.....	35
5.5	Avaliação Antropométrica.....	36
5.5.1	Peso.....	36
5.5.2	Índice de Massa Corpórea.....	37
5.5.3	Estatura.....	37
5.5.4	Circunferência da cintura.....	37
5.6	Bioimpedância elétrica.....	37
5.7	Avaliação do consumo alimentar.....	38
5.8	Coleta dos materiais biológicos e avaliação bioquímica.....	39
5.8.1	Sangue.....	39
5.8.2	Urina de 24 horas.....	39
5.9	Controle de contaminação.....	40
5.10	Parâmetros bioquímicos de avaliação de zinco.....	40
5.10.1	Determinação de zinco no plasma e eritrócitos.....	40
5.10.2	Determinação de zinco na urina.....	41
5.11	Determinação da hemoglobina no eritrócito e no sangue total.....	41
5.12	Determinações dos parâmetros lipídicos e da glicemia de jejum.....	41
5.13	Determinação da atividade da enzima superóxido dismutase total.....	42
5.14	Determinação da atividade da enzima Glutational peroxidase.....	42
5.15	Determinação da concentração de malondialdeído (MDA) no plasma.....	42
5.16	Concentração de isoprostanos (8-iso PGF2 α).....	43
5.17	Determinação da creatinina urinária.....	44
5.18	Determinação dos polimorfismos +35A/C e Arg213Gli nos genes que codificam para as enzimas superóxido dismutase 1 e 3.....	44
5.19	Análise estatística.....	45

6	RESULTADOS.....	46
6.1	Homogeneidade dos grupos.....	46
6.2	Avaliação antropométrica.....	48
6.3	Avaliação do consumo alimentar.....	49
6.4	Dados bioquímicos.....	52
7	DISCUSSÃO.....	58
8	CONCLUSÃO.....	65
	REFERÊNCIAS.....	66
	APÊNDICES.....	79
	ANEXOS.....	86

1 INTRODUÇÃO

A obesidade é uma doença que acomete cerca de 15,8% dos brasileiros adultos (BRASIL, 2012) e suas causas são multifatoriais, incluindo fatores genéticos, ambientais e psicossociais (HILL; PETERS, 1998; KOPELMAN, 2000). Pode ser determinada pelo índice de massa corpórea (IMC) $\geq 30 \text{ kg}/(\text{m})^2$ (WHO, 2000). A obesidade está relacionada com um estado de estresse oxidativo crônico, o qual é caracterizado por um desequilíbrio entre os radicais livres formados e a presença de substâncias antioxidantes. A baixa ingestão de substâncias antioxidantes, a hiperglicemia, o aumento do tecido adiposo e a redução na atividade das enzimas antioxidantes ao longo da doença contribuem para o surgimento do estresse oxidativo na obesidade (VINCENT & TAYLOR, 2006).

O zinco (Zn) é um dos elementos traços mais abundantes no corpo humano e desempenha papel importante em várias funções bioquímicas e fisiológicas, tais como o crescimento, desenvolvimento e maturação sexual. Apresenta função antioxidante principalmente por participar da estrutura de enzimas como, por exemplo, da superóxido dismutase (SOD) e por induzir a produção de metalotioneínas, a qual apresenta atividade redox (BELL & VALLEE, 2009; PRASAD, 2008).

Alguns estudos observaram baixas concentrações de Zn plasmático e eritrocitário em indivíduos obesos, bem como aumento da sua excreção urinária (CHEN et al., 1997; COMINETTI; GARRIDO; COZZOLINO, 2006; LUIS et al., 2011). A deficiência de Zn na obesidade parece estar relacionada a uma má distribuição tecidual decorrente de situações de estresse e inflamação. Esses fatores induzem a expressão de metalotioneínas e de transportadores de Zn, gerando o acúmulo de Zn no fígado e adipócitos, contribuindo para a redução da concentração de Zn circulante (COMINETTI et al., 2006; MARREIRO; FISBERG; COZZOLINO, 2002; LIUZZI et al., 2005).

A presença de polimorfismos de nucleotídeo único nos genes da *SOD1* e *SOD3* pode contribuir para o aumento do estresse oxidativo na obesidade. As enzimas SOD catalisam a dismutação do radical superóxido (O_2^-) para oxigênio (O_2) e peróxido de hidrogênio (H_2O_2) (FUKAI & USHIO-FUKAI, 2011). O polimorfismo +35A/C no gene da *SOD1* está relacionado com uma menor atividade da enzima

(FLEKAC et al., 2008), enquanto o polimorfismo Arg213Gli altera a afinidade da SOD3 pelos glicosaminoglicanos, reduzindo sua concentração e proteção da parede vascular (MARKLUND et al., 1997; PETERSEN et al., 2005).

Assim, tornam-se necessárias a avaliação do estado nutricional de indivíduos obesos em relação ao Zn, visto que esse mineral desempenha função antioxidante no organismo, bem como a investigação de polimorfismos nos genes de enzimas antioxidantes relacionadas a esse elemento, os quais podem piorar o quadro de estresse oxidativo na obesidade ou ter alguma correlação com o status de Zn.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Obesidade e estresse oxidativo

A prevalência de sobrepeso e obesidade vem aumentando no mundo, sendo considerada uma epidemia nos países desenvolvidos e em desenvolvimento (POPKIN & DOAK, 1998). A obesidade mundial mais que dobrou desde a década de 80. Dados de 2008 referem que a prevalência mundial de sobrepeso foi estimada em mais de 1,4 bilhão de indivíduos adultos, dos quais 200 milhões de homens e 300 milhões de mulheres já apresentavam obesidade (WHO, 2012). Levantamento realizado pelo Ministério da Saúde do Brasil revelou que o percentual de pessoas adultas obesas subiu de 11,4%, em 2006, para 15,8% em 2011 (BRASIL, 2012). Estimativas mostram que a taxa de obesidade pode elevar-se para mais de 20% no Brasil no ano de 2025 (LOW; CHIN; DEURENBERG-YAP, 2009). O sobrepeso e a obesidade têm-se tornado assunto de relevada importância para a saúde pública, pois estão associados com risco aumentado para várias doenças crônicas, como diabetes tipo 2, doenças cardiovasculares, hipertensão, dislipidemia e câncer (GREENBERG & OBIN, 2006).

A obesidade pode ser definida como o resultado do desequilíbrio entre a ingestão e o gasto energético dos indivíduos, acarretando em acúmulo excessivo de gordura corporal (JIMÉNEZ et al., 2010). É determinada por meio do índice de massa corpórea (IMC) igual ou maior $30 \text{ kg}/(\text{m})^2$, medida que apresenta correlação significativa com a gordura corporal (WHO, 2000).

A obesidade é um grupo heterogêneo de condições com múltiplas causas. O peso corporal é determinado pela interação de fatores genéticos, ambientais e psicossociais, que podem afetar tanto a ingestão como o gasto energético. O alto consumo de alimentos de elevada densidade calórica e os baixos níveis de atividade física são os fatores ambientais que mais contribuem para o alto consumo de energia e para o baixo gasto energético (HILL; PETERS, 1998; KOPELMAN, 2000).

A genética pode influenciar na obesidade, fornecendo a indivíduos expostos a um mesmo ambiente diferentes riscos de se tornarem obesos. Muitos

genes têm sido associados com a obesidade humana ou com suas complicações metabólicas. São incluídos genes importantes no mecanismo da termogênese, assim como aqueles envolvidos na regulação do apetite, especialmente através da via melanocortina-leptina (KOPELMAN, 2000; WALLEY; ASHER; FROGUEL, 2009). Alterações no gene do receptor de melanocortina tipo 4 (MC4R) podem resultar em hiperfagia e obesidade (WALLEY; ASHER; FROGUEL, 2009). Assim, a obesidade tem sido citada como uma desordem neurocomportamental com defeitos no controle neurológico do apetite. Polimorfismos no gene FTO (*fat mass and obesity associated*) também têm sido positivamente associados com maior IMC e maior consumo energético (FAROOQI, 2011).

Um complexo sistema fisiológico evoluiu em um nível ótimo para regular a ingestão, a reserva e o uso da energia proveniente dos nutrientes (FRIEDMAN & HALAAS, 1998). O balanço energético é regulado por sinais hormonais e neuronais que estão integrados com o cérebro. Muitos peptídeos intestinais agem como hormônios endócrinos e influenciam a ingestão energética. Os de maior destaque são colecistoquinina, polipeptídeo pancreático, peptídeo YY, peptídeo semelhante ao glucagon (GLP-1), oxintomodulina e grelina. Com exceção da grelina, esses hormônios agem aumentando a saciedade e reduzindo a ingestão alimentar (CHAUDHRI et al., 2006).

A leptina é um hormônio liberado no sistema circulatório pelo tecido adiposo, cujas concentrações séricas são diretamente proporcionais à quantidade do tecido. Esse hormônio sinaliza para o hipotálamo, fornecendo informações sobre o estado das reservas energéticas do corpo. O resultado é um decréscimo na ingestão de alimentos e um aumento do gasto energético. Indivíduos com maiores IMC e percentual de gordura corporal parecem apresentar resistência à leptina. A leptina influencia a expressão de vários neuropeptídeos, como o neuropeptídeo Y (NPY), potente estimulador do apetite. A deficiência ou a resistência à leptina ocasionam a superexpressão de NPY, resultando na hiperfagia da obesidade (FRIEDMAN & HALAAS, 1998; KLOK; JAKOBSDOTTIR; DRENT, 2006).

O tecido adiposo é um órgão endócrino ativo capaz de secretar mais de 50 tipos de adipocinas, proteínas que modulam o sistema imune em favor da inflamação sistêmica crônica. Leptina, adiponectina, interleucinas 6 (IL-6) e 8 (IL-8), fator de necrose tumoral- α (TNF- α), inibidor do ativador de plasminogênio-1 e ácidos graxos livres são alguns desses produtos (WISSE, 2004).

A presença de obesidade está relacionada com o estresse oxidativo, pois o acúmulo elevado de ácidos graxos no tecido adiposo parece estimular a produção de espécies reativas de oxigênio (ERO's) nas células adiposas através da ativação da NADPH oxidase, enzima geradora de ERO's (MAIESE; CHONG; SHANG, 2007). Os ácidos graxos liberados pela ruptura de células gordurosas podem ativar macrófagos, bem como células de gordura intactas e ainda induzir o aumento do estresse oxidativo (TRAYHURN & WOOD, 2004; WISSE, 2004).

As ERO's e as espécies reativas de nitrogênio (ERN's) são radicais livres altamente oxidativos produzidos naturalmente no metabolismo humano, representados principalmente pelo ânion superóxido (O_2^-), óxido nítrico (NO), peroxinitrito ($ONOO^-$) e radical hidroxila ($OH^\bullet$), sendo esse último o mais reativo dos radicais. A produção exacerbada dessas espécies pode atacar compostos extras e intracelulares, causando envelhecimento e morte da célula (VASCONCELOS et al., 2007).

Um dos efeitos do estresse oxidativo é a peroxidação lipídica, que leva a alterações nas propriedades biológicas da membrana, como a fluidez. A geração de produtos oxidados, que são quimicamente reativos, pode aumentar o dano celular (DALLE-DONNE, 2006). Alguns dos principais produtos da oxidação de ácidos graxos poliinsaturados são os isoprostanos e os aldeídos, como o malondialdeído (MDA) (ABDALLA & SENNA, 2008).

O estresse oxidativo tem sido implicado na patogênese de cânceres, desordens neurodegenerativas, diabetes mellitus e doenças cardiovasculares. O estresse oxidativo prejudica a captação de glicose no músculo e tecido adiposo e diminui a secreção de insulina das células β pancreáticas (FURUKAWA et al., 2004). Tem sido considerado ainda o principal mecanismo responsável pela disfunção endotelial na obesidade, sendo essa o evento inicial na patogênese da aterosclerose (LAU et al., 2005). As ERO's dentro da parede vascular contribuem para a oxidação da lipoproteína de baixa densidade (LDL), levando ao acúmulo de LDL nas paredes do vaso, o que é citotóxico para as células endoteliais (BONETTI et al., 2003).

As espécies de oxigênio funcionam como mediadores inflamatórios, ativando a expressão de citocinas como IL-6 e TNF- α , o que contribui para a lesão tecidual tanto por danificar diretamente o tecido como por aumentar ainda mais o acúmulo de leucócitos. Macrófagos também são conhecidos por produzir ERO's e podem estar envolvidos no aumento de NADPH oxidase e na produção elevada de

ERO's. O TNF- α , cujos níveis encontram-se elevados na obesidade, estimula os leucócitos em processos inflamatórios e pode induzir essas células a produzirem mais espécies reativas de oxigênio (DANDONA et al., 2001; FURUKAWA et al., 2004; URAKAWA et al., 2003). Estudos mostraram que ERO's reduziram a expressão de adiponectina, sugerindo que um tratamento com antioxidantes poderia restaurar os níveis desse neuropeptídeo (FURUKAWA et al., 2004). A figura 1 mostra os principais fatores que podem influenciar o estresse oxidativo na obesidade.

Fonte: Adaptado de Vincent & Taylor (2006).

Figura 1. Relação dos fatores pro e antioxidantes no estresse oxidativo presente na obesidade.

A atividade de enzimas antioxidantes parece estar baixa na obesidade, contribuindo ainda mais para o quadro de estresse oxidativo. Sugeriu-se que nos estágios iniciais da obesidade há um estímulo e elevação da atividade de enzimas antioxidantes para combater o estresse oxidativo, enquanto na obesidade crônica há a depleção das fontes dessas enzimas, levando a um baixo nível de atividade (OLUSI, 2002).

2.2 Zinco

O Zn é um elemento de suma importância para a saúde e o crescimento do organismo humano. Seu papel como mineral essencial foi evidenciado a partir da descoberta de sua função na atividade da anidrase carbônica, enzima encontrada nas hemácias que, em uma reação reversível, hidrata o dióxido de carbono nessas células originando o ácido carbônico (FAIRWEATHER-TAIT, 1988; KEILIN & MANN, 1940). Apesar de não possuir alta reatividade como outros metais, o íon Zn^{2+} funciona como um ácido de Lewis e não participa de reações redox, o que permite sua utilização como cofator de reações, sem que haja o risco de sofrer oxidação (HAMBIDGE, 2000; MCCALL; HUANG; FIERKE., 2000).

O Zn é um dos elementos traços mais abundantes no corpo humano e seu conteúdo é de, aproximadamente, 1,5 g em mulheres e 2,5 g em homens. É encontrado em vários tecidos, mas sua maior concentração, aproximadamente 85%, está no tecido muscular e ósseo. Na circulação, cerca de 80% do Zn estão nos eritrócitos e apenas 16% no plasma, ligados à albumina (70%) e a α -macroglobulina. Quase 95% do mineral estão no meio intracelular, com 30 a 40% localizados no núcleo e 50% no citoplasma (KING, 2006; TAPIERO & TEW, 2003).

Em geral, as funções do Zn podem ser caracterizadas em catalítica, estrutural e regulatória. O Zn está envolvido no processo de catálise de diversas enzimas que controlam mecanismos celulares, como a síntese de DNA, reprodução, estabilidade de membranas e crescimento normal. As metaloenzimas de maior destaque são as RNA polimerases, superóxido dismutase, carboxipeptidases A e B, álcool desidrogenase, anidrase carbônica e fosfatase alcalina (IOM, 2000a; MCCALL; HUANG; FIERKE, 2000; STEFANIDOU; MARAVELIAS; SPILIOPOULOU, 2006).

O Zn desempenha seu papel estrutural determinando a forma espacial de enzimas e proteínas, o que facilita o dobramento dessas moléculas, tornando-as biologicamente ativas. Essas estruturas são conhecidas como *zinc fingers* ou dedos de Zn. Muitas dessas proteínas estão envolvidas na transcrição do DNA. A regulação da expressão de alguns genes, como o da metalotioneína, constitui outro papel importante do Zn. Sua ligação com o fator de transcrição do elemento de resposta a metais (MTF1) ativa a transcrição de genes (IOM, 2000a; TUERK &

FAZEL, 2009). Ele influencia a apoptose, processo que contribui para a homeostasia e para a morte celular em resposta à infecções (TRUONG-TRAN et al., 2000).

O Zn está envolvido na regulação hormonal da divisão celular, pois o fator de crescimento semelhante à insulina (IGF) é sensível ao estado nutricional do indivíduo em relação ao Zn, que quando baixo prejudica a ligação do IGF aos seus receptores de superfície celular (MACDONALD, 2000). O Zn está presente em grandes quantidades no cérebro e desempenha papel na modulação da sinalização sináptica (TAPIERO & TEW, 2003).

O Zn desempenha importante papel na ação da insulina, pois se liga a esse hormônio, cristalizando-o e facilitando seu armazenamento no pâncreas (RUTTER, 2010). *In vitro*, o mineral induziu um aumento no transporte de glicose para dentro de adipócitos através de interferência nas vias de sinalização da insulina, estimulando a fosforilação do receptor de insulina (IR) e ativando a via fosfatidil-inositol-3-quinase e proteína kinase B (TANG & SHAY, 2001).

Através de suas três funções, catalítica, estrutural e regulatória, o Zn desempenha importante papel na resposta imune e no estresse oxidativo, ao prevenir a formação de radicais livres e proteger estruturas biológicas (STEFANIDOU; MARAVELIAS; SPILIOPOULOU, 2006).

No sistema imune, o Zn é necessário como cofator da atividade biológica da timulina, hormônio secretado pelo timo e responsável pela maturação dos linfócitos T. A deficiência do mineral pode gerar redução na maturação dessas células, na citotoxicidade e na produção de interleucina-2 (IL-2) e de interferon- γ (IFN- γ). A ativação de macrófagos-monócitos, ocasionada pela deficiência de Zn, gera um aumento de citocinas pró-inflamatórias como, IL-1 β , IL-6, IL-8 e TNF- α . Há ainda o comprometimento da atividade das células *natural killer* (NK) e da fagocitose de macrófagos e neutrófilos. A IL-12 produzida por macrófagos é dependente de Zn e, juntamente com IFN- γ , é responsável pela morte de parasitas, vírus e bactérias (DARDENNE, 2002; PRASAD, 2009a; RINK & KIRCHNER, 2000).

A função antioxidante do Zn dá-se por: 1) participar da estrutura das enzimas SOD; 2) manter as concentrações de metalotioneína; 3) inibir a enzima NADPH oxidase (PRASAD, 2008; TAPIERO & TEW, 2003). As enzimas Cu,Zn-SOD e SOD extracelular, que contêm o mineral Zn em suas estruturas, desempenham função antioxidante ao catalisar a reação de transformação do radical superóxido em

peróxido de hidrogênio e oxigênio (FORMIGARI et al., 2007). O Zn é capaz de inibir as enzimas NADPH oxidase, que catalisam a produção de superóxido, utilizando NADPH como fonte de elétrons (PRASAD, 2008). As metalotioneínas agem como antioxidantes, pois seus resíduos de cisteína contendo enxofre podem ser oxidados e reduzidos enquanto liberam ou se ligam ao zinco, conferindo a essa proteína atividade redox (BELL & VALLEE, 2009; PRASAD, 2008).

Agindo como antagonista de metais de transição com atividade redox, como o ferro e o cobre, o Zn é capaz de reduzir a formação do radical hidroxila proveniente de peróxido de hidrogênio e superóxido. O Zn compete com ambos os minerais pela ligação na membrana celular, reduzindo a produção de OH^- (POWELL, 2000; PRASAD, 2008).

O Zn induz a regulação de uma *zinc finger*, a A20, a qual inibe a ativação do fator nuclear kappa B, NF- κ B. A translocação do NF- κ B para o núcleo da célula irá regular a expressão de vários genes, principalmente de citocinas, proteínas de fase aguda, moléculas de adesão celular e vias de sinalização relacionadas à inflamação. Assim, um estado nutricional adequado de zinco pode inibir a inflamação pela regulação da atividade do NF- κ B (PRASAD, 2009a).

O Zn está amplamente presente em diversos alimentos, associado a moléculas orgânicas ou na forma de sais inorgânicos. O processo de digestão permite a ligação do Zn livre a outras moléculas na luz intestinal, como a aminoácidos e fosfatos. Sua absorção ocorre principalmente no intestino delgado (IOM, 2000a). A cinética de captação do Zn pelo enterócito caracteriza-se por um mecanismo ativo saturável e passivo envolvendo transportadores (LIUZZI & COUSINS, 2004). Acredita-se que uma mudança intraluminal ocorra para permitir a passagem do Zn pelo enterócito, como a união a aminoácidos ou proteínas (TAPIERO & TEW, 2003).

Os transportadores de Zn são codificados por duas famílias de genes denominados transportador ligado ao soluto (SLC). A família ZnT ou SLC30 é constituída de aproximadamente dez proteínas que atuam transportando o Zn do citoplasma para fora das células ou para dentro de vesículas intracelulares. A família ZIP ou SLC39 é formada por pelo menos quatorze proteínas que transportam o Zn do meio extracelular e de vesículas para o citoplasma (Figura 2) (LIUZZI & COUSINS, 2004; TUERK & FAZEL, 2009).

Fonte: Adaptado de Liuzzi & Cousins (2004).

Figura 2. Proteínas transportadoras de zinco nas células, ZnT e ZIP.

No enterócito, o Zn é carregado pela metalotioneína e pode ser excretado para a circulação portal, sendo transportado pela albumina. No fígado, o Zn é armazenado ligado às metalotioneínas hepáticas ou pode migrar para outros tecidos, ligado à albumina, à α_2 -macroglobulina e a aminoácidos (Figura 3). As metalotioneínas são proteínas ligantes de metais como Zn, cobre e cádmio e o sistema metalotioneína/tioneína conserva o Zn em sua estrutura, controlando sua concentração. Sob condições de estresse oxidativo, há a liberação do Zn para outras metaloenzimas, como a SOD (PRASAD, 2009a). A principal forma de excreção do Zn é pelas fezes, com perdas de 2,5 a 5,5 mg/dia (TAPIERO & TEW, 2003).

O controle da absorção pelos transportadores ZnT e ZIP e a excreção do Zn endógeno pelo pâncreas e secreções intestinais são as principais formas de manutenção da homeostase do mineral (TAPIERO & TEW, 2003).

A biodisponibilidade de Zn pode ser afetada por alguns fatores, como presença de hexafosfato de mio-inositol (fitato), teor de proteína da dieta, quantidade de zinco na dieta e presença de minerais, como ferro. O fitato liga-se ao Zn e forma complexos poucos solúveis, reduzindo a absorção do mineral. A quantidade de proteína na refeição está relacionada positivamente com a absorção de Zn, visto que alimentos ricos em proteínas também são fontes do mineral. O tipo de proteína também afeta a biodisponibilidade de Zn, pois foi observado que proteínas animais compensavam o efeito inibitório do fitato de uma mesma refeição. A quantidade de Zn de uma refeição também afeta a absorção do mineral e há uma correlação

inversa entre a quantidade ingerida e a fração absorvida. O aumento da ingestão de ferro pode interferir na absorção do Zn e vice-versa, pois esses elementos competem pelo mesmo sítio de absorção na mucosa intestinal (KREBS, 2000; LÖNNERDAL, 2000).

Fonte: Adaptado de Henriques; Hirata; Cozzolino (2004).

Figura 3. Esquema representativo da absorção, transporte e excreção do zinco.

A ingestão dietética recomendada de Zn foi baseada principalmente em perdas endógenas basais e no tempo de *turnover* dos *pools* de Zn endógeno, sendo de 11,0 e 8,0 mg/dia para homens e mulheres saudáveis com idade acima de 19 anos, respectivamente. As principais fontes de Zn são as carnes vermelhas, mariscos como camarão e ostras e os grãos integrais, sendo que no farelo e no gérmen há maior percentual do mineral (IOM, 2000a).

A deficiência de Zn foi descoberta na década de 60 e ainda hoje é comum nos países desenvolvidos e em desenvolvimento. Parece estar presente em países onde há o consumo principalmente de proteínas de origem vegetal. Além da deficiência decorrente do baixo consumo de Zn, prejuízos na atividade de proteínas que regulam seu metabolismo e disfunções metabólicas e genéticas podem acarretar em deficiência desse elemento, como por exemplo, síndromes de má absorção, acrodermatite enterohepática, doença de Crohn, cirrose hepática e doenças renais. As consequências da deficiência de Zn são várias, podendo-se destacar a dermatite pustular, retardo no crescimento, hipogonadismo, disfunção do

sistema imune, intolerância à glicose, alopecia, diarreia, perda de peso, alterações neuro-sensoriais, redução do apetite e letargia mental (PRASAD, 2009b; SALGUEIRO et al., 2000).

O estado nutricional de Zn pode ser avaliado por um conjunto de parâmetros bioquímicos e pela mensuração da ingestão alimentar através de inquéritos alimentares. O Zn plasmático é a fonte primária desse mineral para todas as células, apresentando uma dinâmica rápida que mantém o controle homeostático. Esse parâmetro pode ser usado para identificar populações em risco de deficiência de Zn. Já o Zn eritrocitário não reflete mudanças recentes nas concentrações do mineral, devido à meia vida mais longa dos eritrócitos de 120 dias (MAFRA & COZZOLINO, 2004; GIBSON, 1990).

2.3 Estado nutricional de zinco na obesidade

A hipozincemia e a hiperzincúria são frequentemente relatadas em indivíduos obesos (CHEN et al., 1997; COMINETTI; GARRIDO; COZZOLINO, 2006; LUIS et al., 2011), indicando uma alteração no metabolismo do Zn na obesidade. Além disso, uma correlação inversa entre concentrações plasmáticas de Zn e IMC já foi observada (SÁNCHEZ et al., 2009). Muitos estudos relatam não haver correlação entre a ingestão de Zn dietético e a concentração do mesmo no plasma ou soro de indivíduos obesos (IOM, 2000a).

Em geral, os valores encontrados de zinco sanguíneo são menores em indivíduos obesos, entretanto as deficiências relatadas variam de acordo com os marcadores analisados.

Crianças e adolescentes obesos apresentaram concentrações significativamente menores de Zn plasmático e eritrocitário em relação ao grupo controle, assim como maior excreção de Zn urinário. Ambos os grupos apresentaram consumo adequado de zinco dietético (MARREIRO; FISBERG; COZZOLINO, 2002). Resultados semelhantes nas concentrações de Zn plasmático e eritrocitário foram observados por Błażewicz et al. (2013). Perrone et al. (1998) encontraram valores de Zn sérico menores em crianças e adolescentes obesos em relação aos eutróficos e valores semelhantes de Zn no cabelo.

Em adultos, a concentração de Zn no soro e no cabelo de 51 homens e 84 mulheres com sobrepeso e obesidade foi significativamente menor do que dos indivíduos eutróficos (CHEN et al., 1988). Ozata et al. (2002) observaram concentração de Zn plasmático menor em homens obesos do que nos eutróficos. Nenhum dos estudos avaliou a ingestão dietética do mineral para possíveis correlações. Ferro et al. (2011a) encontraram valores diferentes apenas no Zn eritrocitário, com as mulheres eutróficas apresentando maiores concentrações, enquanto valores semelhantes de Zn plasmático foram observados entre os grupos. Nesse estudo, o grupo caso apresentou maior consumo de Zn dietético. O Zn plasmático também não variou em estudo com mulheres mexicanas obesas e eutróficas, em que o consumo dietético foi semelhante entre os grupos (GARCÍA et al., 2012).

Estudos que avaliaram as concentrações sanguíneas de Zn no pré e pós-operatório de indivíduos obesos submetidos à cirurgia bariátrica observaram um aumento nessas concentrações após a cirurgia, assim como uma redução na excreção de Zn urinário, apesar da ingestão dietética do mineral ter sido menor no momento pós-operatório (COMINETTI; GARRIDO; COZZOLINO, 2006; ROJAS et al., 2011). A deficiência de Zn sérico foi diagnosticada em 57 (24,6%) indivíduos obesos mórbidos e em 85 (73,9%) mulheres obesas que iriam se submeter à cirurgia bariátrica (ERNST et al., 2009; LUIS et al., 2011). Corroborando com os resultados citados, um programa de perda de peso com duração de seis meses reduziu o peso corporal de 23 mulheres obesas e aumentou significativamente as concentrações de Zn plasmático ao final do programa (ISHIKAWA et al., 2005). Esses resultados sugerem que a perda de peso melhora o estado nutricional de indivíduos obesos em relação ao Zn.

Animais obesos apresentam má distribuição tecidual de Zn, com elevada concentração em tecidos específicos. Kennedy e Failla (1987) verificaram que, ao receberem administração oral de Zn, camundongos obesos absorveram maior quantidade do mineral através da mucosa intestinal do que os não obesos. Em relação à distribuição de Zn nos tecidos, camundongos obesos apresentaram menores concentrações na pele, músculo, ossos e baço e maiores concentrações no fígado, intestino e tecido adiposo em relação aos não obesos. Chen et al. (1998) observaram maiores concentrações de Zn no fígado e tecido adiposo epididimal e maiores perdas urinárias e fecais do mineral em ratos obesos do que nos magros.

Nesse estudo, sugeriu-se que a suplementação de Zn contribuiu para a má distribuição específica nos tecidos.

Smidt et al. (2007) avaliaram a expressão das proteínas ZnT e ZIP no tecido adiposo subcutâneo e visceral de indivíduos obesos e magros e observaram que essas proteínas foram mais expressas nos tecidos dos indivíduos obesos e no tecido subcutâneo em relação ao visceral. De acordo com os autores, a expressão das proteínas transportadoras de Zn no tecido adiposo sugere que o metabolismo do mineral é regulado por essas proteínas também nesse tecido e que a obesidade pode influenciar o sistema de transporte do Zn nos adipócitos.

A deficiência de Zn na obesidade e sua má distribuição tecidual foram relacionadas com a inflamação. Indivíduos obesos apresentam inflamação semelhante à encontrada em doenças infecciosas. Embora não se saiba ao certo o grau de semelhança da inflamação na obesidade e na infecção, o metabolismo do Zn parece ser alterado do mesmo modo por citocinas e vias de sinalização nas duas condições (KLEVAY, 2010).

Após a administração da endotoxina lipopolissacarídeo (LPS) em indivíduos saudáveis, para reproduzir um modelo de endotoxemia, foi observado aumento das citocinas plasmáticas TNF- α e IL-6 e redução da concentração de Zn sérico. A hipozincemia foi atribuída, em parte, à redistribuição interna do Zn causada pelas citocinas, visto que não houve redução da albumina sérica, principal proteína de ligação do Zn, redução na afinidade de ligação do Zn com a albumina e nem aumento das perdas urinárias do mineral (GAETKE et al., 1997).

A IL-6 aumentou a expressão da proteína transportadora ZIP14 em uma cultura de hepatócitos e a sua presença na membrana plasmática. Essa localização apical sugere que a proteína promova a captação de Zn do sangue para o fígado em situações de inflamação crônica e aguda e de doenças infecciosas (LIUZZI, 2005). A expressão de metalotioneínas 1 e 2 em fígado de ratos aumentou após administração de IL-1, assim como a retenção de Zn nesse tecido (COUSINS & LEINART, 1988).

2.4 Enzimas superóxido dismutase e polimorfismos +35A/C e Arg213Gli

As enzimas SODs representam a principal defesa celular contra os radicais superóxido, sendo capazes de catalisar a dismutação desse radical para produzir O_2 e H_2O_2 . O mecanismo de dismutação do $O_2^{\cdot-}$ envolve a redução e a posterior reoxidação de um metal de transição redox no sítio ativo da enzima, como o cobre e o manganês, que serão os moduladores chave da atividade das SOD1 e SOD3 e da SOD2, respectivamente (Figura 4) (FUKAI & USHIO-FUKAI, 2011). Juntamente com as enzimas catalase e GPx, que eliminam o H_2O_2 , as SODs combatem os efeitos nocivos das espécies reativas de oxigênio (ADACHI et al., 2009).

Fonte: Adaptado de Fukai & Ushio-Fukai (2011).

Figura 4. Mecanismo de ação da enzima SOD.

Nos mamíferos, as três isoformas de SOD encontradas são a cobre-zinco SOD (CuZn-SOD ou SOD1), a manganês SOD (Mn-SOD ou SOD2) e a SOD extracelular (EC-SOD ou SOD3). Duas isoformas, a CuZn-SOD e a Mn-SOD, são intracelulares e encontradas predominantemente no citoplasma e na mitocôndria, respectivamente (Figura 5). A SOD extracelular (SOD3) é a principal enzima protetora no espaço extracelular (ADACHI et al., 2009). Apesar de possuírem estruturas moleculares diferentes, as SOD1 e SOD3 apresentam 60% de homologia

em seus genes e ambas necessitam de cobre e de Zn para sua atividade enzimática (JOHNSON; JOHNSON; LUKASKI, 2005).

Fonte: Adaptado de FARACI & DIDION (2004).

Figura 5. Localização celular das três isoformas da enzima SOD.

A SOD 1 é a principal SOD intracelular, estando localizada principalmente no citosol, com uma pequena fração no espaço intermembrana da mitocôndria. Nos mamíferos, a SOD1 é encontrada em maiores concentrações no fígado, eritrócitos, rins e vasos sanguíneos, onde é a principal isoforma de SOD. SOD1 responde por 50 a 80% da atividade da SOD total.

SOD1 é uma enzima dimérica e cada unidade monomérica contém um sítio ativo de cobre e Zn ligados por uma histidina. O cobre funciona no revezamento dos processos de oxidação e redução, enquanto o Zn ajuda a manter a estabilidade da enzima (FUKAI & USHIO-FUKAI, 2011).

A deficiência na atividade da SOD1 acarreta em um aumento dos níveis vasculares de superóxido e peroxinitrito e da resposta vasoconstrictora, assim como em um relaxamento prejudicado do endotélio (FARACI & DIDION, 2004).

Nos humanos, o gene da *SOD1* está localizado no cromossomo 21, região 21q22.11. Ele consiste de cinco éxons interrompidos por quatro íntrons. A região promotora possui sítios de ligação para fatores de transcrição como NF- κ B, receptores ativados por proliferadores de peroxissoma (PPAR) e elemento responsivo a xenobiótico (MIAO & CLAIR, 2009).

A SOD extracelular é uma glicoproteína tetramérica composta de dois dímeros ligados por pontes dissulfetos e cada subunidade contém um átomo de cobre e um de Zn. As subunidades são compostas por três regiões distintas e uma

delas, região C-terminal, corresponde ao domínio de ligação com a heparina (ANTONYUK et al., 2009).

A SOD3 pode estar presente em pequenas quantidades em fluidos extracelulares como plasma, linfa e líquido sinovial, entretanto 99% do seu conteúdo estão presentes nos tecidos, ancorados no sulfato de heparano, com menos de 1% presente na circulação. A associação da SOD3 com os tecidos acontece pelo domínio de ligação da heparina, o qual é determinante para a afinidade da enzima por glicosaminoglicanos presentes na matriz extracelular, como heparina e sulfato de heparano (FUKAI & USHIO-FUKAI, 2011; MARKLUND et al., 1997).

A SOD3 é altamente expressa nos vasos sanguíneos, no pulmão, no rim e no útero, sendo seu conteúdo muito baixo em órgãos como fígado, coração e cérebro (ADACHI et al., 2009). No tecido vascular, é sintetizada pelas células do músculo liso vascular e fibroblastos, localizando-se na superfície da membrana endotelial (FORSBERG et al., 2001; FUKAI & USHIO-FUKAI, 2011; JENEY et al., 2005).

O gene da SOD3 está localizado no cromossomo 4 (região 4p15.2) dos seres humanos. Ele apresenta 3 éxons e 2 íntrons, sendo o éxon 3 o que contém a região codificadora completa da SOD3 (FATTMAN, et al., 2003). A região promotora do gene contém vários elementos regulatórios, incluindo 2 elementos de resposta antioxidante (ARE), sítios de ligação AP-1, elementos de resposta a xenobióticos, elemento de resposta ao AMP cíclico e sítios de ligação do NF- κ B (FATTMAN, et al., 2003; NOZIK-GRAYCK; SULIMAN; PIANTADOSI, 2005).

Os polimorfismos de nucleotídeo único (SNPs) são variações em uma única base nitrogenada do DNA e ocorrem em pelo menos 1% dos indivíduos de uma população. Os SNPs correspondem a cerca de 90% das variações de sequência no DNA humano. SNPs presentes em regiões codificadoras de genes ou em regiões regulatórias são mais propensos a causar diferenças funcionais, apesar de a maioria deles não afetar a função do gene (COLLINS; BROOKS; CHAKRAVARTI, 1998).

O polimorfismo +35A/C (rs2234694) no gene da SOD1 está situado adjacente ao local de *splicing* (éxon3/íntron3) e resulta da substituição de uma adenina por uma citosina, estando relacionado com a atividade da enzima. Maior atividade enzimática foi observada em pacientes diabéticos com o genótipo AA do que AC e CC (FLEKAC et al., 2008; GHATTAS & ABO-ELMATTY, 2012). A

presença do alelo C conferiu um risco aumentado para o desenvolvimento de nefropatia no diabetes tipo I (PANDURU et al., 2010).

A frequência desse polimorfismo encontrada em indivíduos saudáveis variou de 29% a 73%. Em pacientes diabéticos tipos I e II, a frequência foi de 52% e 58%, respectivamente (FLEKAC et al., 2008; GHATTAS & ABO-ELMATTY, 2012). Já em pacientes com câncer da cavidade oral e orofaringe, essa frequência foi bem menor, de 9% (BRESSAN, 2010).

Alguns indivíduos podem apresentar níveis plasmáticos extremamente elevados de SOD3 em decorrência de um SNP no gene da enzima, o Arg213Gli (rs1799895). Esse SNP ocorre após a substituição de uma citosina por uma guanina, que ocasiona a troca do aminoácido arginina por uma glicina (R213G). O polimorfismo localiza-se no domínio de ligação com a heparina, levando a uma redução na afinidade pelos glicosaminoglicanos. Como consequência, há um aumento de 10 a 30 vezes na concentração plasmática de SOD3 em indivíduos homozigotos (MARKLUND et al., 1997; PETERSEN et al., 2005).

Apesar desse polimorfismo não alterar a atividade da enzima, ele parece ter importantes implicações clínicas (SANDSTROM et al., 1994). O aumento plasmático de SOD3 pode refletir em um nível antioxidante reduzido no tecido endotelial, e consequentemente, em um aumento do estresse oxidativo e da oxidação de LDL nas paredes arteriais. De fato, foi demonstrado que indivíduos heterozigotos têm um risco aumentado de desenvolver doença isquêmica do coração (JULL, 2004; PETERSEN et al., 2005).

A frequência desse polimorfismo já foi estimada na Austrália (3,3%), norte europeu (3,8%) e Japão (6%), (ADACHI & WANG, 1998; MARKLUND et al., 1997; YAMADA et al., 1995). Não há dados na literatura sobre esse polimorfismo na população brasileira.

3 HIPÓTESES

- Indivíduos obesos apresentam deficiência do mineral Zn.
- A deficiência do mineral Zn influencia no nível de estresse oxidativo e apresenta associação com os polimorfismos Arg213Gli e +35A/C.

4 OBJETIVOS

4.1 Geral

Avaliar o estado nutricional de mulheres obesas em relação ao Zn e verificar sua associação com o estresse oxidativo e os polimorfismos Arg213Gli e +35A/C.

4.2 Específicos

Avaliar nas participantes: o consumo alimentar de Zn e de macronutrientes; a composição corporal; o estado nutricional relativo ao Zn; marcadores relativos ao estresse oxidativo (malondialdeído e 8-isoprostano); o perfil lipídico (triglicerídeos, colesterol total, HDL colesterol, LDL colesterol); glicemia de jejum; a frequência dos polimorfismos Arg213Gli e +35A/C nos genes que codificam para as enzimas SOD1 e SOD3, respectivamente; a atividade das enzimas antioxidantes GPx e SOD.

5 CASUÍSTICA E MÉTODOS

5.1 Tipo de estudo

O estudo foi de natureza caso-controle que, segundo Pereira (1995), é um estudo em que há a identificação dos fatores de risco para as doenças, partindo do efeito (doença) para a investigação da causa (exposição), na tentativa de encontrar associação.

O protocolo desse estudo foi submetido aos comitês de ética em pesquisa da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da USP (parecer nº 204/2011) e do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da USP por meio da Plataforma Brasil (parecer nº 17260). Todas as participantes foram esclarecidas sobre os procedimentos aos quais seriam submetidas e sobre o objetivo da pesquisa.

5.2 Definição da amostra

A amostra do estudo foi constituída por indivíduos adultos do sexo feminino, sendo definidos como casos (OB) (n = 60) as mulheres obesas que faziam acompanhamento clínico no Grupo de Obesidade e Síndrome Metabólica, do Serviço de Endocrinologia e Metabologia do Instituto Central do Hospital das Clínicas, da FMUSP (USP), e controles (CON) (n = 55) mulheres eutróficas, funcionárias de restaurantes e escritórios da USP.

Para o cálculo do tamanho da amostra, utilizou-se a fórmula a seguir, indicada para estudos de caso-controle:

$$n = Z_{1-\alpha/2}^2 \cdot \{1/[P_1(1 - P_1)] + 1/[P_2(1 - P_2)]\} / \log_e(1 - \epsilon)^2,$$

onde:

- P_1 é o percentual de indivíduos obesos: $P_1 = 15,8\%$, segundo pesquisa de Vigilância de Fatores de Risco e Proteção para Doenças Crônicas por Inquérito Telefônico (BRASIL, 2012);

- OR = antecipada razão de chance: OR = 2
- $P_2 = P_1/[OR(1 - P_1) + P_1]$;
- ε = precisão relativa; $\varepsilon = 50\%$;

Consultando a Tabela 6 do manual “*Sample size determination in health studies – a practical manual*” (LWANGA, 1991), encontrou-se um valor aproximado de $n=89$ para casos e 89 para controles.

5.3 Critérios de inclusão

Foram incluídas na pesquisa participantes do sexo feminino, com presença de eutrofia, obesidade grau I, obesidade grau II e grau III, com $18,5 < \text{IMC} < 24,9 \text{ kg}/(\text{m})^2$, $30 < \text{IMC} < 34,9 \text{ kg}/(\text{m})^2$, $35 < \text{IMC} < 39,9 \text{ kg}/(\text{m})^2$, $\text{IMC} > 40,0 \text{ kg}/(\text{m})^2$, respectivamente, com idades entre 19 e 50 anos e que não apresentassem: prática de atividade física intensa, alguma doença que alterasse o estado oxidativo como infecções, inflamações, câncer, transtornos tireoidianos ou que fizessem uso de tabaco, suplementos alimentares ou outros medicamentos que possam interferir no metabolismo de Zn.

Inicialmente, outros critérios de exclusão estavam sendo adotados, como presença de diabetes e hipertensão, uso de anti-inflamatórios, estatinas e diuréticos. Entretanto, percebeu-se que muitas pacientes obesas apresentavam essas patologias e faziam uso de tais medicamentos. Assim, optou-se por incluí-las no estudo e fazer o tratamento estatístico ao final das análises.

5.4 Procedimentos para coleta de dados

As participantes foram submetidas à coleta de sangue e urina de 24h para avaliar o estado nutricional relativo ao Zn, marcadores de estresse oxidativo, a frequência dos polimorfismos Arg213Gli e +35A/C, a atividade das enzimas SOD e GPx total. Foi realizada avaliação antropométrica e do consumo alimentar

(recordatório 24h), essa para obtenção de informações quanto ao consumo de Zn e de macronutrientes (carboidratos, proteínas e lipídios). Foi aplicado um questionário, a fim de se obter informações sócio-econômicas, de detectar a presença de doenças, uso de medicamentos ou suplementos vitamínicos e avaliar o nível de atividade física (MATSUDO et al., 2001). O fluxograma das atividades está representado na figura 6.

Figura 6. Fluxograma das atividades do estudo.

5.5 Avaliação Antropométrica

5.5.1 Peso

Para aferição do peso foi utilizada balança antropométrica com graduação de 100g, onde a participante foi posicionada no centro da balança, descalça, usando a menor quantidade de roupa possível, em posição ereta e com os braços estendidos ao longo do corpo.

5.5.2 Estatura

A estatura foi aferida utilizando um estadiômetro fixo à parede, onde a participante ficou em pé com os pés juntos, descalços e braços estendidos ao longo do corpo, olhando para a linha do horizonte com a cabeça formando um ângulo de 90°.

5.5.3 Índice de massa corpórea

O IMC foi calculado dividindo-se o peso atual pela estatura ao quadrado, sendo que essas medidas foram dadas em quilogramas e em metros, respectivamente, e o resultado foi analisado de acordo com a classificação proposta pela World Health Organization (2000).

5.5.4 Circunferência da cintura

A circunferência da cintura foi aferida com a participante em pé, com os pés juntos e braços estendidos ao longo do corpo, utilizando uma fita métrica não-extensível. A mesma circundou o indivíduo no ponto médio entre a última costela e a crista ilíaca. A leitura foi feita no momento da expiração e o resultado foi analisado de acordo com a classificação proposta pela World Health Organization (2000).

5.6 Bioimpedância elétrica

Para determinação desta medida, foi utilizado o analisador de composição corporal tetrapolar da marca Biodynamics, modelo 310e. Os indivíduos ficaram deitados em uma maca, com pés e mãos posicionados conforme orientação do fabricante. Os indivíduos foram orientados a retirar todos os objetos metálicos, como brincos e relógios, a estar em abstinência de álcool e de bebidas cafeinadas nas últimas 24 horas, a não ter praticado atividade física intensa nas últimas 24 horas. Mulheres no período menstrual foram orientadas a realizar o teste em outro dia.

5.7 Avaliação do consumo alimentar

Para avaliação do consumo alimentar foi utilizado o método recordatório de 24h, em que o entrevistador anota todos os alimentos consumidos pelas participantes em dois dias alternados durante a semana e mais um dia no final de semana.

A análise dos alimentos ingeridos pelas participantes da pesquisa foi feita por meio do software NutWin, do Departamento de Informática da Escola Paulista de Medicina/UNIFESP e a adequação das dietas foi realizada por meio das *Dietary Reference Intakes* (DRIs) de 2000 e 2005, considerando os macronutrientes e o Zn.

A análise da adequação do consumo alimentar em Zn foi feita por meio da avaliação da ingestão do indivíduo e da avaliação da ingestão do grupo. Para avaliação da adequação da ingestão do indivíduo, foi utilizada a Necessidade Média Estimada (EAR). Calculou-se a diferença (D) entre a ingestão média diária de Zn de cada indivíduo e a EAR. O desvio padrão da diferença (DPd) foi calculado e, em seguida, a relação D/DPd. Esse resultado forneceu a probabilidade de adequação da ingestão individual (Tabela 1) (IOM, 2000b).

A avaliação da ingestão alimentar do grupo foi feita utilizando como ponto de corte a EAR. Os valores de ingestão de Zn foram ajustados pela energia pelo cálculo do nutriente residual e corrigidos pela variabilidade intrapessoal e interpessoal (WILLETT; HOWE; KUSHI, 1997).

Tabela 1. Valores da razão D/DPd e a probabilidade da ingestão alimentar estar adequada ou inadequada. São Paulo, 2013.

Critério D/DPd	Conclusão	Probabilidade de concluir corretamente
> 2,00	Ingestão habitual adequada	0,98
> 1,65	Ingestão habitual adequada	0,95
> 1,50	Ingestão habitual adequada	0,93
> 1,00	Ingestão habitual adequada	0,85
> 0,50	Ingestão habitual adequada	0,70
> 0,00	Ingestão habitual adequada/inadequada	0,50
< -0,50	Ingestão habitual inadequada	0,70
< -1,00	Ingestão habitual inadequada	0,85
< -1,50	Ingestão habitual inadequada	0,93
< -1,65	Ingestão habitual inadequada	0,95
< -2,00	Ingestão habitual inadequada	0,98

Fonte: IOM, 2000b.

5.8 Coleta dos materiais biológicos e avaliação bioquímica

5.8.1 Sangue

Amostras de 20 mL de sangue foram coletadas por um profissional da área de enfermagem com seringas descartáveis, no período da manhã, estando os participantes em jejum de, no mínimo, 10 horas. Uma parte do sangue foi coletada em tubo sem anticoagulante, com gel, para obtenção do soro. O sangue restante foi transferido para tubos de plástico desmineralizados contendo anticoagulante citrato de sódio a 30%. O plasma foi separado do sangue total por centrifugação a 3000 x g durante 15 minutos a 4°C, extraído com pipeta automática, acondicionado em tubos de polipropileno desmineralizados e armazenado a -80°C para posterior análise.

Após este procedimento, a massa eritrocitária obtida do sangue total foi lavada três vezes com 5 mL de solução fisiológica à 0,9%, homogeneizada lentamente por inversão e centrifugada a 10.000 x g por 10 minutos a 4°C, sendo o sobrenadante descartado. Após a última centrifugação, a solução fisiológica foi aspirada, a massa de eritrócitos foi cuidadosamente extraída com pipeta automática e colocada em tubos de polipropileno desmineralizados, e armazenada a -80°C até o momento da análise.

Essas amostras foram destinadas à análise de Zn, MDA, perfil lipídico, glicemia de jejum e polimorfismos.

5.8.2 Urina de 24 horas

As amostras de urina foram coletadas em frascos previamente desmineralizados que foram enviadas pelos Correios às participantes para que a coleta fosse realizada em domicílio. As participantes foram orientadas quanto à forma correta de coletar e armazenar a urina. Essas amostras foram coletadas e entregues à pesquisadora no dia da coleta de sangue e as alíquotas, após a medida do volume total, foram armazenadas a -80°C para posterior análise de Zn e 8-isoprostano.

5.9 Controle de contaminação

Toda a vidraria, plásticos, ponteiros e tubos para análises de Zn foram desmineralizados em banho de ácido nítrico a 20%, por no mínimo 12 horas e foram enxaguados 10 vezes consecutivas com água nanopura, minimizando assim a contaminação por minerais. O material que será utilizado nas demais determinações serão esterilizados e *DNase free*.

5.10 Parâmetros bioquímicos de avaliação de zinco

5.10.1 Determinação de Zn no plasma e eritrócitos

A determinação da concentração de Zn plasmático foi realizada por meio do método de espectrofotometria de absorção atômica de chama, proposta por Rodriguez et al. (1989). Foram retiradas três alíquotas de cada amostra do plasma que foram diluídas em água Milli-Q® na proporção de 1:2 e aspiradas na chama do aparelho. Para preparação da curva de calibração, foi utilizado Tritizol® (MERCK) diluído em água Milli-Q® com glicerol a 3%, nas concentrações 0; 0,1; 0,2; 0,3; 0,5 e 1,0 µg/mL. Os resultados das absorbâncias foram expressos em µg/dL.

A determinação de Zn eritrocitário foi realizada por meio do método de espectrofotometria de absorção atômica de chama, proposta por Whitehouse et al. (1982). Uma alíquota de 400µL de massa eritrocitária foi diluída em água Milli-Q® na proporção de 1:4. Dessa diluição foram retirados 400 µL que foram diluídos em 3,6 mL de água Milli-Q®. Essa última diluição foi feita em triplicata e as amostras foram aspiradas na chama do aparelho. Para preparação da curva de calibração, foi utilizado Tritizol® (MERCK). Os resultados foram expressos em µg Zn/g Hb e para isso, foi determinada ainda a concentração de hemoglobina das amostras por espectrofotometria.

Os controles de referência certificados, Seronorm™ *Trace Elements Serum* e Seronorm™ *Trace Elements Whole Blood*, foram utilizados para acompanhar o desempenho das análises.

5.10.2 Determinação de zinco na urina

A determinação da concentração de Zn na urina foi realizada por meio do método de espectrofotometria de absorção atômica de chama, proposta por Kiillerich et al. (1980). Depois de descongelada, foram retiradas três alíquotas de cada amostra da urina que foram diluídas em água Milli-Q® na proporção de 1:2 e aspiradas diretamente na chama do aparelho. Para preparação da curva de calibração, foi utilizado Tritizol® (MERCK) diluído em água Milli-Q® nas concentrações 0; 0,1; 0,2; 0,3; 0,5 e 1,0 µg/mL.

O controle de referência certificado, Seronorm™ *Trace Elements Urine*, foi utilizado para acompanhar o desempenho das análises.

5.11 Determinação da hemoglobina no eritrócito e no sangue total

Esta análise foi realizada com a finalidade de expressar os resultados de zinco/massa de hemoglobina, de SOD/massa de hemoglobina e de GPx/massa de hemoglobina. Foi utilizado o kit Hemoglobina da Labtest®. Uma alíquota de 100 µL de massa eritrocitária foi diluída em 100 µL de água Milli-Q® na proporção de 1:2. Em um tubo de 5 mL foram colocados 20 µL dessa diluição e foi acrescentado 5 mL do reagente de cor. O sangue total não passou por diluição, sendo acrescentados 5 mL do reagente de cor aos 20 µL da amostra. As leituras foram feitas em aparelho de espectrofotômetro *RA-50 Chemistry System* em comprimento de onda de 540 nm.

5.12 Determinações dos parâmetros lipídicos e da glicemia de jejum

Os exames bioquímicos para determinação das concentrações de colesterol plasmático total, HDL-colesterol, LDL-colesterol, triglicerídeos e glicemia de jejum foram realizados no analisador automático Labmax 240, da Labtest®, com reagentes, calibradores e controles específicos da própria empresa. Foi injetada no aparelho uma alíquota de 500 µL de soro para a leitura de todos esses parâmetros.

5.13 Determinação da atividade da enzima superóxido dismutase total

A atividade da SOD foi determinada nos eritrócitos, pelo método *in vitro*, em um analisador bioquímico automático (Labmax 240, Labtest®) usando um kit disponível comercialmente (Ransod; Randox Laboratories, UK), conforme metodologia recomendada pelo fabricante. Essa técnica baseia-se no emprego da xantina e da xantina oxidase (XOD) para gerar radicais superóxido os quais reagem o I.N.T. (2-(4-iodophenyl)-3-(4-nitrophenol)-5-phenyltetrazolium chloride) para formar o corante formazan vermelho. A atividade da SOD é então mensurada pelo grau de inibição dessa reação. Para tanto, foram preparados além da amostra, o substrato misto, tampão, xantina oxidase e o padrão, para posteriormente ser calculada a atividade da enzima em análise. A atividade da enzima foi expressa em U/g Hb.

5.14 Determinação da atividade da enzima Glutathione peroxidase

Foi determinada a atividade da enzima GPx no sangue total. Esta análise foi realizada de acordo com a metodologia proposta por Paglia & Valentine (1967), em um analisador bioquímico (Labmax 240, Labtest®), usando um kit disponível comercialmente (Ransel; Randox Laboratories, UK). Essa técnica baseia-se na oxidação da glutathione por peróxido de hidrogênio. Na presença da glutathione redutase e NADH, a glutathione oxidada é imediatamente convertida a forma reduzida, com concomitante oxidação de NADH (reduzindo NADPH a NADH⁺). A atividade da enzima foi expressa em U/l.

5.15 Determinação da concentração de malondialdeído (MDA) no plasma

A concentração de malondialdeído no plasma foi medida por meio da sua separação do peróxido lipídico pela cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC)

como descrito previamente por Cheng et al. (2008) com adaptações (LARSTAD et al., 2002).

Em 250 µL de plasma, foram adicionados 36 µL de butil-hidroxitolueno (BHT) 0,2% e 12,5 µL de hidróxido de sódio (NaOH) 10N em microtubos de polipropileno, que foram aquecidos a 60°C por 30 minutos em equipamento *Vortemp* 70. Após a adição de 500 µL de ácido tricloroacético (TCA) 7,2% com iodeto de potássio (KI) 1%, o microtubo foi homogeneizado em Vórtex, resfriado em gelo por 10 minutos e centrifugado a 4000 rpm por 10 minutos. Após a centrifugação, 500 µL do sobrenadante foram transferidos para tubo rosqueável. Foram adicionados 25 µL de ácido tiobarbitúrico (TBA) 0,6% e o tubo foi aquecido a 90°C por 45 minutos. 150 µL de n-butanol foram acrescentados ao tubo, que agitado em Vórtex e centrifugado a 3000 rpm por 10 minutos, para extração do complexo MDA-TBA. Foram retirados 60 µL de sobrenadante, que foram transferidos para tubo vial, para serem injetados no HPLC.

A identificação foi realizada em HPLC da marca Agilent, equipado com coluna *Phenomenex Reverse-phase* C18 de 250 mm x 4,6 mm com partículas de 5 µm (Agilent Technologies, Palo Alto, CA). A temperatura foi mantida em 4°C, e a temperatura da coluna foi de 25°C. A fase móvel utilizada foi 65% de tampão fosfato de potássio (50 mM; pH 7,0) e 35% de metanol. O volume de injeção foi de 20 µL, a taxa de fluxo de 1 mL/minuto e o tempo de corrida de 10 minutos. A detecção foi realizada fluorimetricamente, com excitação de 515 nm e emissão de 543 nm. A concentração de MDA foi calculada a partir da equação da reta gerada pela curva de calibração, cujas concentrações variavam de 0,5 a 10,0 µmol/L.

5.16 Concentração de isoprostanos (8-iso PGF_{2α})

Foi determinada por ELISA (Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay) com kit 8-isoprostane EIA[®] (Cayman ChemicalCo). Inicialmente a urina coletada foi purificada em coluna de afinidade para evitar a interferência de contaminantes. As amostras foram estocadas a -80°C na presença de 0,005% de butil-hidroxitolueno (BHT) para posterior análise. Em seguida, foi seguido o protocolo de análise fornecido pelo fabricante. A leitura das placas foi realizada em espectrofotômetro

com comprimento de onda de 410 nm e os resultados calculados em ng/mmol de creatinina (PROUDFOOT et al., 1999).

5.17 Determinação da creatinina urinária

A determinação da creatinina urinária foi feita com o kit Creatinine K da Labtest®. O método se baseia na reação da creatinina com o ácido pícrico formando o picrato de creatinina, complexo vermelho que pode ser medido fotometricamente. Para a realização das análises, as amostras de urina foram centrifugadas a 1600 rpm por 6 minutos. Uma alíquota de 25 µL da amostra foi diluída em 4800 µL de água Milli-Q® e essa diluição foi injetada no analisador bioquímico (Labmax 240, Labtest®).

5.18 Determinação dos polimorfismos +35A/C e Arg213Gli nos genes que codificam para as enzimas superóxido dismutase 1 e 3

Primeiramente, foi realizada a extração de DNA do sangue total com o kit PureLink™ Genomic DNA da Invitrogen™, conforme instruções do fabricante. O sistema é baseado no isolamento do DNA genômico a partir de amostras de sangue, em que há a lise de células e tecidos com proteinase K e a purificação do DNA utilizando processo de centrifugação. A quantificação do DNA extraído foi feita em espectrofotômetro Nanodrop® ND-1000, em comprimento de onda de 260 nm. O DNA extraído foi conservado a -4°C até sua utilização.

A genotipagem da população do estudo foi feita pelo sistema TaqMan SNP Genotyping Assays, da Applied Biosystems®, conforme instruções do fabricante. Este sistema é baseado na análise *end-point* da RT-PCR (Real time – PCR, ou Reação em Cadeia da Polimerase em Tempo Real) com determinação da presença ou ausência de um SNP baseado na mudança na fluorescência dos corantes associados com as sondas.

O ensaio foi realizado com TaqMan® Genotyping Master Mix (Applied Biosystems®) e TaqMan® Genotyping Assay Mix. Os *primers* utilizados para genotipagem do SNP +35A/C foram *FORWARD*: 5'-CTATCCAGAAAACACGGTGGGCC-3' e *REVERSE*: 5'-TCTATATTCAATCAAATGCTACAAAACC-3'. Para o SNP Arg213Gli foram utilizados os *primers* *FORWARD*: 5'-GCAACCAGGCCAGCGTGGAGAACGGGAA-3' e *REVERSE*: 5'-CCAGAGGAGAAGCTCAAAGGCAGA-3'. Na mistura para a PCR foram utilizados 12,5 µL de Master Mix, 1,25 µL de sonda e 11,25 µL de amostra diluída contendo 20 ng de DNA.

A RT-PCR foi realizada no aparelho StepOne® (Life Technologies, Foster City, CA, EUA) nas seguintes condições: ativação da enzima AmpliTaq Gold® DNA polimerase a 95°C por 10 minutos; desnaturação a 92° por 15 segundos e anelamento e extensão a 60°C por 1 minuto. As duas últimas etapas foram realizadas em um total de 40 ciclos.

As amostras ainda serão enviadas para sequenciamento no Centro de Estudos do Genoma Humano do Instituto de Biologia da USP.

5.19 Análise estatística

Os dados foram apresentados por meio de tabelas e gráficos para melhor compreensão dos resultados. Foram calculadas as medidas estatísticas descritivas média, desvio padrão e mediana das variáveis quantitativas. Analisaram-se as associações entre as variáveis categóricas por meio dos testes não paramétricos de qui-quadrado (χ^2) e de razão de verossimilhança. As associações entre as variáveis quantitativas foram realizadas por meio do coeficiente de correlação r de Pearson. Para as análises de médias foi verificada a normalidade das variáveis (teste de Kolmogorov-Smirnov), bem como a igualdade de variâncias (teste de Levene). As médias dos três graus de obesidade foram comparadas pelo teste F de Snedecor (ANOVA), para as variáveis com distribuição normal. Sendo estatisticamente significantes, as comparações múltiplas foram feitas pelo teste de Tukey (se variâncias iguais) ou de Games-Howell (se variâncias desiguais). Para as variáveis sem distribuição normal as médias dos três graus de obesidade foram comparadas pelo teste de Kruskal-Wallis. Sendo estatisticamente significantes, as comparações

múltiplas foram feitas pelo teste de Conover-Inman. O teste de Mann-Whitney foi usado, ao invés do teste t de Student, para comparar a mediana de alguns grupos com tamanho da amostra pequeno.

Para o cálculo da prevalência de inadequação alimentar de Zn dos grupos, foi verificado se a ingestão de Zn apresentava distribuição normal ($p > 0,005$) por meio do teste de Kolmogorov-Smirnov. Após confirmação, os valores do consumo do mineral foram ajustados pela energia e corrigidos pela variabilidade intrapessoal e interpessoal. Por fim, foi feito o cálculo para obtenção do z-escore através da diferença entre a EAR de Zn para mulheres adultas (6,8 mg/dia) e a ingestão do grupo dividida pelo desvio padrão ($z = \text{EAR} - \text{média de ingestão do grupo} / \text{dp}$) (SLATER; MARCHIONI; FISBERG, 2004).

A fim de se analisar as regressões das variáveis desfecho Zn plasmático, MDA e 8-isoprostano, optou-se pelo modelo de regressão linear multivariada *backward*, haja vista o grande número de variáveis explicativas na modelagem (28 variáveis), tendo o modelo apresentado o maior número dessas variáveis no modelo final, além de tratar eventuais problemas de multicolinearidade. Todas as variáveis em escala não métricas foram transformadas em variáveis *dummy*.

O equilíbrio de Hardy-Weinberg foi calculado pelo teste do qui-quadrado com calculadora para marcadores bialélicos (RODRIGUEZ, GAUNT, DAY, 2009).

Para todas as análises, foi considerado como estatisticamente significativo $p < 0,05$. Os dados foram processados nos *softwares* SPSS versão 14.0 e Microsoft Excel 2010.

6 RESULTADOS

6.1 Homogeneidade dos grupos

Na tabela 2, verificou-se a homogeneidade dos grupos quanto aos dados socioeconômicos, hábitos de vida, presença de doenças, história familiar de doenças e uso de medicamentos pelo teste de qui-quadrado ou razão de

verossimilhança. A média de idade do grupo OB foi de $35,6 \pm 7,6$ anos e do grupo CON foi de $35,4 \pm 9,5$ anos.

Tabela 2. Análise da homogeneidade dos grupos OB e CON. São Paulo, 2013.

Variáveis	Grupo OB (n = 60)		Grupo CON (n = 55)		p
	N	%	N	%	
<i>Dados socioeconômicos</i>					
Faixa Etária					0,209 ^a
21-29 anos	14	23,3	20	36,4	
31-39 anos	32	53,3	21	38,2	
40-50 anos	14	23,3	14	25,5	
Estado civil					0,998 ^b
Solteira	24	40,0	22	40,0	
Casada/união estável	29	48,3	26	47,3	
Separada/divorciada	6	10,0	6	10,9	
Viúva	1	1,7	1	1,8	
Etnia					0,057 ^a
Branco	21	36,2	31	57,4	
Negro	17	29,3	8	14,8	
Parda/mulata	20	34,5	15	27,8	
Escolaridade					0,125 ^a
Fundamental completo/médio incompleto	7	11,7	10	18,2	
Médio completo/superior incompleto	32	53,3	19	34,5	
Superior completo	21	35,0	26	47,3	
Renda					0,011 ^b
1,0 SM	3	5,0	2	3,7	
1,1 a 2,0 SM	15	25,0	11	20,4	
2,1 a 5,0 SM	30	50,0	19	35,2	
5,1 a 10,0 SM	12	20,0	15	27,8	
Acima de 10,1 SM	0	0,0	7	13,0	
<i>Hábitos de vida</i>					
Tabagismo					0,815 ^a
Nunca fumou	49	81,7	45	83,3	
Ex-fumante	11	18,3	9	16,7	
Ingestão de bebida alcóolica					0,821 ^a
Sim	21	35,0	20	37,0	
Não	39	65,0	34	63,0	
Nível de atividade física					0,082 ^b
Sedentário	6	10,0	1	1,8	
Insuficientemente ativo	28	46,7	22	40,0	
Ativo	25	41,7	32	58,2	
Muito ativo	1	1,7	0	0,0	
<i>Presença de doenças</i>					
Diabetes					0,022 ^b
Sim	4	6,7	0	0,0	
Não	56	93,3	55	100,0	
Hipertensão					<0,001 ^a
Sim	23	38,3	4	7,4	
Não	37	61,7	50	92,6	
<i>Uso de medicamentos</i>					
Anti-inflamatórios					0,873 ^a

Sim	6	10,0	6	10,9	0,002 ^a
Não	54	90,0	49	89,1	
Diuréticos					0,009 ^a
Sim	12	20,0	1	1,8	
Não	48	80,0	54	98,2	
Estatinas					0,002 ^a
Sim	7	11,7	0	0,0	
Não	53	88,3	55	100,0	
<i>História familiar de doenças</i>					
Obesidade					0,010 ^a
Sim	37	61,7	17	32,7	
Não	23	38,3	35	67,3	
Diabetes					0,123 ^a
Sim	40	66,7	22	42,3	
Não	20	33,3	30	57,7	
Hipertensão					
Sim	50	83,3	37	71,2	
Não	10	16,7	15	28,8	

^a valor de p calculado pelo teste qui-quadrado.

^b valor de p calculado por razão de verossimilhança.

6.2 Avaliação antropométrica

Na tabela 3, estão apresentados as medidas antropométricas e o percentual de gordura das participantes. De acordo com o teste t-Student, houve diferença estatisticamente significativa entre os dois grupos para todas as variáveis ($p < 0,0001$), com exceção da altura.

Tabela 3. Medidas antropométricas e percentual de gordura dos grupos OB e CON. São Paulo, 2013.

Variáveis	Grupo OB (n = 60)	Grupo CON (n = 55)	p ^a
	Média ± DP	Média ± DP	
Peso (kg)	103,7 ± 22,8	59,9 ± 6,7	<0,0001
Altura (m)	1,61 ± 0,07	1,62 ± 0,06	0,701
IMC (kg/m ²)	39,8 ± 7,6	22,9 ± 2,1	<0,0001
Circunferência da cintura (cm)	109,8 ± 15,6	75,8 ± 6,8	<0,0001
Percentual de gordura corporal (%)	48,1 ± 5,4	31,7 ± 5,3	<0,0001

^a valor de p calculado pelo teste t-Student.

De acordo com o IMC, observou-se a presença de 18 participantes com obesidade grau I (OB1), 20 com obesidade grau II (OB2) e 22 com obesidade grau III (OB3). Na tabela 4, estão apresentadas as medidas antropométricas e o percentual de gordura dessas participantes.

Tabela 4. Medidas antropométricas e percentual de gordura dos grupos OB1, OB2 e OB3. São Paulo, 2013.

Variáveis	Grupo OB1 (n = 18)	Grupo OB2 (n = 20)	Grupo OB3 (n = 22)	p
	Média ± DP	Média ± DP	Média ± DP	
IMC (kg/m ²)	32,4 ± 1,3	37,9 ± 1,5	47,5 ± 6,7	<0,0001 ^a
Circunferência da cintura (cm)	95,9 ± 5,9	106,1 ± 7,1	125,0 ± 14,1	<0,0001 ^b
Percentual de gordura corporal (%)	40,3 ± 11,1	48 ± 3,4	52,6 ± 2,6	<0,0001 ^b

^a valor de p calculado pelo teste Kruskal-Wallis.

^b valor de p calculado pelo teste ANOVA.

Pelo teste de comparações múltiplas, observou-se diferença entre os graus de obesidade para as três variáveis (Tabela 5).

Tabela 5. Comparações múltiplas de medidas antropométricas e percentual de gordura dos grupos OB1, OB2 e OB3. São Paulo, 2013.

Variáveis	OB1 vs OB2	OB1 vs OB3	OB2 vs OB3
	Valor de p		
IMC (kg/m ²)	0,044 ^a	<0,0001 ^a	<0,0001 ^a
Circunferência da cintura (cm)	<0,0001 ^b	<0,0001 ^b	<0,0001 ^b
Percentual de gordura corporal (%)	0,027 ^b	0,001 ^b	<0,0001 ^b

^a valor de p calculado pelo teste Conover-Inman.

^b valor de p calculado pelo teste Games-Howell.

6.3 Avaliação do consumo alimentar

Foi avaliada a Necessidade Média Estimada (EER) das participantes pela fórmula: $EER (kcal) = 354 - (6,91 \times idade [anos]) + PA \times (9,36 \times peso [kg] + 726 \times altura [m])$, considerando o coeficiente de atividade física de 1,12 para baixa atividade (IOM, 2005). Devido à similaridade das diferentes equações desenvolvidas para indivíduos eutróficos e obesos, recomenda-se utilizar a equação para indivíduos eutróficos para todos (IOM, 2003).

A EER calculada foi de 2524,32 kcal para o grupo OB e de 2056,33 para o grupo CON. Comparando os valores da EER com as médias das ingestões obtidas pelo recordatório de 24h, observou-se que essas encontraram-se abaixo dos valores de referência em cerca de 33% para o grupo OB e de 25%, para o grupo CON.

A tabela 6 mostra o consumo de energia, de macronutrientes e de Zn dos grupos OB e CON, calculados com o *software* NutWin. Não foi possível obter os recordatórios de 24h de 27,3% das participantes do grupo CON e de 11,7% das participantes do grupo OB. A ingestão de energia e de macronutrientes foi semelhante entre os grupos, mas a média de ingestão de Zn no grupo CON foi menor que no OB e estava abaixo do recomendado pela EAR.

Tabela 6. Consumo de energia, macronutrientes e zinco dos grupos OB e CON. São Paulo, 2013.

Variáveis	Grupo OB (n = 53)	Grupo CON (n = 40)	p ^a
	Média ± DP	Média ± DP	
Energia (kcal/dia)	1672,78 ± 376,65	1530,31 ± 365,79	0,067
Carboidrato (g/dia)	231,36 ± 67,94	210,92 ± 59,33	0,133
Proteína (g/dia)	73,64 ± 15,58	71,85 ± 26,14	0,688
Lipídio (g/dia)	51,12 ± 16,73	50,24 ± 16,46	0,801
Zinco ajustado (mg/dia)	7,62 ± 2,15	6,10 ± 2,20	0,001

^a valor de p calculado pelo teste t-Student.

As porcentagens do consumo de carboidratos, proteínas e lipídios em relação ao VCT estiveram dentro da faixa recomendada pelo *Institute of Medicine* (2005) nos dois grupos (Tabela 7).

Tabela 7. Contribuição energética dos nutrientes da dieta dos grupos OB e CON. São Paulo, 2013.

Variáveis	Grupo OB (n = 53)	Grupo CON (n = 40)	Recomendação (%)
Carboidrato (%VCT)	55,69	55,13	45-65
Proteína (%VCT)	17,73	18,78	10-35
Lipídio (%VCT)	27,69	29,55	20-35

Após o ajuste pela energia e correção pela variabilidade, a média da ingestão de Zn dos grupos permaneceu a mesma, já que não é afetada pela variância intrapessoal, contudo a dispersão dos valores diminuiu (Figuras 7 e 8). O percentual de inadequação no grupo OB foi de 38,6% e no grupo CON foi de 62,3%.

Figura 7. Histograma da ingestão bruta e ajustada de Zn e prevalência de inadequação da ingestão no grupo OB (n = 53).

Figura 8. Histograma da ingestão bruta e ajustada de Zn e prevalência de inadequação da ingestão no grupo CON (n = 40).

A avaliação da ingestão individual mostrou que das 53 participantes OB, 14 (26,4%) apresentaram mais de 85% de probabilidade de adequação no consumo de Zn e apenas 4 (7,5%) mais de 85% de probabilidade de inadequação. No grupo CON, das 40 participantes apenas 2 (5,0%) apresentaram mais de 85% de probabilidade de adequação no consumo de Zn, enquanto 13 (32,5%) apresentaram mais de 85% de probabilidade de inadequação (Figura 9). Observou-se que a proporção de obesos (26,4%) com razão D/DPd >1,00 foi 5,3 vezes maior do que a dos controles (5,0%) ($p=0,015$).

Figura 9. Adequação individual da ingestão alimentar de Zn dos grupos OB e CON. São Paulo, 2013.

6.4 Dados bioquímicos

A tabela 8 apresenta os dados bioquímicos dos grupos OB e CON referentes às concentrações de Zn no plasma, eritrócito e urina, à atividade das enzimas SOD e GPx e às concentrações de MDA no plasma e 8-isoprostano na urina.

Tabela 8. Concentrações de zinco plasmático, eritrocitário e urinário, atividade das enzimas SOD e GPx, concentrações de MDA no plasma, 8-isoprostano e creatinina na urina dos grupos OB e CON. São Paulo, 2013.

Variáveis	Grupo OB (n = 60)	Grupo CON (n = 55)	p ^a
	Média ± DP	Média ± DP	
Zn plasmático (µg/dL)	56,0 ± 8,0	55,7 ± 10,5	0,902
Zn eritrocitário (µg/g Hb)	45,7 ± 11,0	44,1 ± 8,5	0,383
Zn urinário (µg/24h)	346,9 ± 281,8	230,6 ± 128,2	0,010
GPx (U/g Hb)	56,7 ± 19,5	60,1 ± 15,2	0,311
SOD (U/g Hb)	1647,5 ± 315,8	1651,1 ± 506,0	0,962
MDA (µM)	0,4 ± 0,2	0,7 ± 0,2	<0,0001
8-isoprostano (ng/mmol creat.)	89,4 ± 65,3	139,3 ± 52,7	<0,0001
Creatinina urinária (g/dia)	1,3 ± 0,4	0,9 ± 0,4	<0,0001

^a valor de p calculado pelo teste t-Student.

Valores de referência:

Zn plasmático: 70-110 µg/dL (GIBSON, 1990).

Zn eritrocitário: 40-44 µg/g Hb (GUTHRIE & PICCIANO, 1994).

Zn urinário: 300-600 µg/24h (GIBSON, 1990).

GPx: 27,5-73,6 U/g Hb (indicado no kit de determinação).

SOD: 1102-1601 U/g Hb (indicado no kit de determinação).

8-isoprostano: 10-50 ng/mmol creatinina (indicado no kit de determinação).

Creatinina urinária: 0,8-1,8 g/dia (indicado no kit de determinação).

A deficiência plasmática de Zn foi observada em 95,0% das participantes do grupo OB e em 90,9% participantes do grupo CON. Em relação ao Zn eritrocitário, 35,0% do grupo OB e 23,6% do grupo CON apresentaram concentrações abaixo dos valores de referência. As médias de Zn plasmático e eritrocitário foram semelhantes entre os grupos, mas a excreção de Zn urinário foi maior no grupo OB (Figura 10). O grupo CON apresentou maiores concentrações dos marcadores de estresse oxidativo do que o grupo OB (Figura 11), todavia a atividade das enzimas antioxidantes foi semelhante entre os grupos.

Figura 10. Status de zinco dos grupos OB e CON. São Paulo, 2013.

Figura 11. Concentrações de 8-isoprostano e MDA dos grupos OB e CON. São Paulo, 2013.

As concentrações séricas de colesterol total e frações e da glicemia estão resumidas na tabela 9. As concentrações de LDL-colesterol (LDL-C) e triacilgliceróis (TG) foram maiores ($p < 0,05$) no grupo OB do que no CON, enquanto maiores concentrações de HDL-colesterol (HDL-C) foram observadas no grupo CON.

Tabela 9. Concentrações séricas de colesterol total e frações e de glicemia dos grupos OB e CON. São Paulo, 2013.

Variáveis	Grupo OB (n = 60)	Grupo CON (n = 55)	p ^a
	Média ± DP	Média ± DP	
Colesterol total (mg/dL)	193,6 ± 42,1	182,3 ± 36,6	0,146
LDL colesterol (mg/dL)	118,4 ± 38,1	105,5 ± 28,2	0,050
HDL colesterol (mg/dL)	49,6 ± 13,6	57,4 ± 17,8	0,014
Triacilgliceróis (mg/dL)	129,1 ± 63,6	94,8 ± 40,4	0,001
Glicemia (mg/dL)	93,6 ± 47,0	81,6 ± 9,3	0,069

^a valor de p calculado pelo teste t-Student.

Valores ótimos:

Colesterol total (< 200 mg/dL); LDL-C (< 100 mg/dL); HDL-C (> 60 mg/dL); TG (< 200 mg/dL).

Fonte: Xavier et. al., 2013.

Glicemia (< 100 mg/dL). Fonte: Sociedade Brasileira de Diabetes, 2009.

Os dados bioquímicos também foram analisados de acordo com o grau de obesidade das participantes (Tabela 10) e não foi observada diferença entre as médias.

Tabela 10. Concentrações de zinco plasmático, eritrocitário e urinário, atividade das enzimas SOD e GPx, concentrações de MDA no plasma, 8-isoprostano e creatinina na urina, colesterol total e frações e glicemia dos grupos OB1, OB2 e OB3. São Paulo, 2013.

Variáveis	Grupo OB1 (n = 18)	Grupo OB2 (n = 20)	Grupo OB3 (n = 22)	p ^a
	Média ± DP	Média ± DP	Média ± DP	
Zn plasmático (µg/dL)	53,7 ± 5,8	55,7 ± 9,4	57,9 ± 7,9	0,253
Zn eritrocitário (µg/g Hb)	44,0 ± 9,6	48,8 ± 11,4	44,3 ± 11,4	0,296
Zn urinário (µg/24h)	291,5 ± 252,2	330,3 ± 314,8	402,4 ± 273,2	0,471
GPx (U/g Hb)	53,7 ± 17,3	61,2 ± 24,9	55,1 ± 15,4	0,449
SOD (U/g Hb)	1721,0 ± 380,2	1597,5 ± 289,5	1632,5 ± 283,0	0,474
MDA (µM)	0,44 ± 0,2	0,42 ± 0,1	0,41 ± 0,2	0,897
8-isoprostano (ng/mmol creatinina)	107,2 ± 104,1	74,5 ± 51,3	89,8 ± 31,3	0,333
Creatinina urinária (g/dia)	1,13 ± 0,45	1,29 ± 0,36	1,32 ± 0,49	0,371
Colesterol total (mg/dL)	183,3 ± 34,9	204,7 ± 54,9	191,8 ± 29,4	0,302
LDL colesterol (mg/dL)	113,5 ± 30,0	124,3 ± 52,0	116,9 ± 25,0	0,685
HDL colesterol (mg/dL)	45,6 ± 10,5	54,2 ± 17,4	48,5 ± 10,2	0,150
Triacilgliceróis (mg/dL)	122,0 ± 58,9	136,6 ± 74,4	128,1 ± 57,6	0,789
Glicemia (mg/dL)	84,7 ± 12,2	89,7 ± 30,8	107,2 ± 76,0	0,338

^a valor de p calculado pelo teste ANOVA.

Foram feitas correlações entre Zn plasmático e eritrocitário com algumas variáveis bioquímicas e antropométricas. Foram observadas correlações inversas entre Zn plasmático e MDA ($r = -0,418$; $p = 0,002$) e glicemia ($r = -0,504$; $p < 0,0001$) no grupo CON (Figuras 12 e 13).

Figura 12. Correlação entre zinco plasmático e MDA no grupo CON. São Paulo, 2013.

Figura 13. Correlação entre zinco plasmático e glicemia no grupo CON. São Paulo, 2013.

O Zn dietético apresentou correlação positiva com o Zn plasmático no grupo OB (Figura 14).

Figura 14. Correlação entre ingestão dietética de zinco e zinco plasmático no grupo OB. São Paulo, 2013.

Modelos de regressão linear multivariada *backward* foram feitos para avaliar a correlação de variáveis bioquímicas, antropométricas e sócio-econômicas com o Zn plasmático e com os marcadores de estresse oxidativo MDA e 8-isoprostano.

O modelo de regressão para a variável Zn plasmático apresentou duas variáveis explicativas e o teste ANOVA exibiu no modelo final $p = 0,030$, indicando que pelo menos uma das variáveis explicativas é significativa para explicar o comportamento do Zn plasmático. O MDA apresentou correlação negativa com essa variável (Tabela 11).

Tabela 11. Análise de regressão linear utilizando o zinco plasmático como variável dependente. São Paulo, 2013.

Variáveis significantes	Coefficiente de regressão (β)	p
HDL-C	0,112	0,061
MDA	-9,653	0,069

Os resultados dos modelos de regressão para as variáveis 8-isoprostano e MDA estão apresentados na tabela 12. O teste ANOVA exibiu nos modelos finais valores de $p < 0,0001$. A creatinina urinária apresentou correlação negativa com o 8-isoprostano, enquanto a prática de atividade física apresentou correlação positiva. A glicemia e o consumo de energia e de lipídio apresentaram correlação positiva com o MDA.

Tabela 12. Análise de regressão linear utilizando o 8-isoprostano e o MDA como variáveis dependentes. São Paulo, 2013.

Variáveis significantes	Coefficiente de regressão (β)	p
	8-isoprostano	
Prática de atividade física	22,892	0,033
Creatinina urinária	-69,758	< 0,0001
	MDA	
	Glicemia	< 0,0001
	Consumo energético	0,033
	Consumo de lipídios	0,049

Na análise dos polimorfismos, foram encontradas apenas duas participantes heterozigotas (3,33%) para o SNP +35A/C no grupo OB e uma participante (1,82%) no grupo CON. Não foram encontradas participantes com o alelo variante para o SNP Arg213Gli. Esses dados encontram-se na tabela 13.

A distribuição dos genótipos do polimorfismo +35A/C nos dois grupos estavam de acordo com o equilíbrio de Hardy-Weinberg. No grupo OB, as frequências esperadas foram 96,69%, 3,28% e 0,03%, com uma frequência de variação alélica de 0,02 ($\chi^2 = 0,017$; $p = 0,896$). No grupo CON, as frequências esperadas foram 98,19%, 1,82% e 0%, com uma frequência de variação alélica de 0,01 ($\chi^2 = 0,005$; $p = 0,946$). O cálculo do equilíbrio de Hardy-Weinberg para o SNP Arg213Gli não foi realizado, visto que não foi encontrado o alelo variante em nenhuma participante.

Devido à baixa frequência observada dos polimorfismos, não foi possível avaliar as diferenças existentes entre os genótipos.

Tabela 13. Distribuição dos polimorfismos +35A/C e Arg213Gli entre mulheres obesas e eutróficas. São Paulo, 2013.

Genótipo	Grupo OB (n = 60)		Grupo CON (n = 55)	
	N	%	N	%
SNP +35A/C				
AA	58	96,67	54	98,18
AC	2	3,33	1	1,82
CC	0	0,00	0	0,00
SNP Arg213Gli				
CC	60	100,00	55	100,00
CG	0	0	0	0
GG	0	0	0	0

7 DISCUSSÃO

A avaliação do consumo alimentar é utilizada em estudos epidemiológicos para estimar a ingestão de nutrientes e a adequação da dieta de indivíduos e populações e para investigar a correlação entre hábitos alimentares e desfechos relacionados com a saúde. Os parâmetros bioquímicos são úteis para complementar ou confirmar estimativas de inadequação baseadas nos dados alimentares (IOM, 2000b).

Os resultados da análise do consumo alimentar desse estudo mostraram que os valores médios da energia ingerida em ambos os grupos apresentaram-se abaixo dos valores de referência. O sub-relato de alimentos é comum, principalmente entre indivíduos obesos. Briefel et al. (1997) encontraram maior sub-relato entre mulheres, pessoas mais velhas, com sobrepeso ou tentando perder peso. O grau de obesidade pode influenciar o relato dietético quantitativa e qualitativamente, assim como indivíduos obesos tendem a sub-relatar alimentos gordurosos ou ricos em carboidratos (HEITMANN & LISSNER, 1995).

A média da ingestão de Zn no grupo CON estava abaixo das recomendações da EAR e 62,3% dessas participantes apresentaram ingestão inadequada do nutriente. Em contrapartida, a média da ingestão de Zn do grupo OB estava adequada, acima das recomendações da EAR. A ingestão energética foi maior no grupo OB, apesar da diferença não ter sido significativa ($p = 0,067$). Outros estudos também observaram uma ingestão adequada de Zn dietético em indivíduos obesos

(COMINETTI; GARRIDO; COZZOLINO, 2006; ROCHA et al., 2011), assim como média de ingestão de Zn maior nesses indivíduos do que no grupo controle (FERRO et al., 2011b). Já Sánchez et al. (2011) encontraram maior ingestão de Zn em indivíduos não obesos em relação aos obesos, devido ao seu maior consumo de grãos e alimentos lácteos.

O zinco plasmático compreende apenas 0,1% do Zn corporal total, uma quantidade aproximada de 3,5 g. Em indivíduos saudáveis, mecanismos homeostáticos mantêm as concentrações de Zn no plasma dentro de uma estreita faixa, 78 a 98 mg/dL, mesmo na presença de uma ingestão variável do mineral (GIBSON et al., 2008). Para manter essa concentração constante, o Zn absorvido é rapidamente transportado do plasma para outros tecidos (KING; SHAMES; WOODHOUSE, 2000). Essa concentração pode diminuir em decorrência da redução do *status* de Zn (KING, 2006).

Neste estudo, apesar de a ingestão de Zn estar adequada no grupo OB, a concentração plasmática estava reduzida. Esses resultados estão em concordância com os de outros estudos que também observaram concentrações reduzidas nos indivíduos obesos (CHEN et al., 1997; COMINETTI; GARRIDO; COZZOLINO, 2006; PERRONE et al., 1998). O grau de obesidade não influenciou as concentrações de Zn plasmático. São escassos os trabalhos que comparam as concentrações de Zn de acordo com o grau de obesidade. García et al. (2012) não observaram diferença entre os valores das concentrações plasmáticas de Zn entre indivíduos com sobrepeso e obesidade, cujas médias de IMC foram 27,5 e 34,5 kg/m², respectivamente.

A concentração de Zn plasmático no grupo CON também estava abaixo dos valores de referência e semelhante à concentração do grupo OB. Esse achado diferencia-se dos resultados observados por outros estudos (FERRO et al., 2011b; MARREIRO et al., 2002), em que os indivíduos eutróficos apresentaram concentrações de Zn plasmático maiores que indivíduos obesos e dentro dos valores de referência. Chen et al. (1997) selecionaram indivíduos eutróficos e obesos, entre homens e mulheres, e determinaram suas concentrações plasmáticas de Zn. O grupo controle apresentou concentrações significativamente maiores do que o grupo obeso.

Os resultados de Zn plasmático encontrados no atual estudo podem estar relacionados com as concentrações elevadas dos marcadores de estresse oxidativo observadas nas participantes. Os resultados da regressão multivariada mostraram

que o MDA apresentou correlação negativa com as concentrações de Zn plasmático. No grupo CON, foi observada correlação inversa entre Zn plasmático e MDA ($r = -0,418$; $p = 0,002$).

Algumas condições como infecção, inflamação, situações de estresse e ingestão alimentar podem reduzir as concentrações de Zn, especialmente no plasma (FAO/WHO, 2002). A redução do Zn plasmático parece estar associada a um aumento na produção de metalotioneínas no fígado, com consequente aumento das concentrações de Zn hepático (HAMBIDGE & KREBS, 1995). Foi observado que o estresse oxidativo, caracterizado pela presença de radicais livres, induziu a transcrição de genes de metalotioneína I no fígado de camundongos (ANDREWS, 2000). A presença elevada de corticoides também induziu a formação de metalotioneína. Esses hormônios encontraram-se elevados em camundongos obesos, sugerindo como resultado níveis aumentados de Zn complexados a metalotioneínas em tecidos específicos (BEGIN-HEICK et al., 1985).

Foi observada ainda uma correlação negativa entre o Zn plasmático e glicemia no grupo CON. Além de auxiliar no transporte de glicose para dentro das células (TANG & SHAY, 2001), o Zn liga-se a insulina, promovendo sua cristalização e assegurando o armazenamento de quantidade suficiente desse hormônio nas células β para ser liberada após uma refeição (RUTTER, 2010). A suplementação de Zn reduziu a concentração de hemoglobina glicada e aumentou a concentração de Zn sérico em indivíduos diabéticos e saudáveis após três meses de suplementação (AL-MAROOF & AL-SHARBATTI, 2006).

A concentração de Zn nos eritrócitos é quase dez vezes maior do que a do plasma. O Zn é encontrado principalmente com a anidrase carbônica (80-88%) e em pequenas quantidades na Cu-Zn SOD (KING, 2006). Os eritrócitos têm uma meia vida de aproximadamente 120 dias, fornecendo uma avaliação do estado nutricional de Zn por um período mais longo (GIBSON et al., 2008). Assim, diferente da rápida dinâmica do plasma, esse marcador não reflete mudanças de curto prazo na ingestão dietética de Zn e nem mudanças recentes nas concentrações corpóreas do mineral (GIBSON, 2005).

Tanto as participantes do grupo CON como as do OB apresentaram concentrações de Zn eritrocitário adequadas. Entretanto, outros estudos que também avaliaram esse marcador encontraram resultados diferentes. Ferro et al. (2011a) observaram concentrações de Zn abaixo dos valores de referência em

mulheres obesas, enquanto o grupo controle apresentou concentrações adequadas. Crianças e adolescentes obesos apresentaram média de Zn eritrocitário significativamente menor do que o grupo controle e ambos os grupos estavam deficientes no mineral (MARREIRO; FISBERG; COZZOLINO, 2002). Estudo em mulheres com obesidade mórbida também encontrou concentrações de Zn eritrocitário abaixo dos valores de referência (COMINETTI; GARRIDO; COZZOLINO, 2006), enquanto no presente estudo, as participantes com obesidade grau III não apresentaram deficiência nesse marcador.

As perdas urinárias de Zn são baixas se comparadas com a quantidade perdida através do trato gastrointestinal. Essas concentrações permanecem constantes mesmo com amplo intervalo de Zn dietético ingerido (KING; SHAMES; WOODHOUSE, 2000). As perdas urinárias tendem a diminuir quando a ingestão de Zn está muito baixa, como uma resposta homeostática para manter os níveis de Zn no plasma (GUTHRIE & PICCIANO, 1994).

O grupo OB apresentou excreção urinária de Zn dentro dos valores de referência, enquanto o grupo CON apresentou valores abaixo do valor mínimo de referência. Esses achados no grupo CON podem estar associados à baixa ingestão dietética de Zn. A relação Zn/creatinina na urina apresentou correlação positiva ($r = 0,870$; $p = 0,004$) com a ingestão dietética de Zn em mulheres saudáveis (PORTELA & WEISSTAUB, 2000).

Os estudos que avaliaram a excreção urinária de Zn na obesidade têm observado elevadas concentrações do mineral nesse compartimento. Cominetti, Garrido e Cozzolino (2006) encontraram concentrações de Zn urinário acima dos valores de referência em mulheres com obesidade mórbida. Chen et al. (1998) observaram maiores concentrações de Zn urinário em camundongos obesos do que nos controles. Essas concentrações também foram maiores em crianças e adolescentes obesos em comparação aos controles (MARREIRO; FISBERG; COZZOLINO, 2002).

A concentração de zinco urinário é um parâmetro pouco utilizado para avaliar o estado nutricional de zinco e os estudos que utilizaram esse marcador (COMINETTI; GARRIDO; COZZOLINO, 2006; MARREIRO; FISBERG; COZZOLINO, 2002) não explicam a razão de seu aumento na obesidade. Sabe-se que a hiperzincúria está presente em outras situações de inflamação como doenças hepáticas, doença inflamatória intestinal, câncer e diabetes (KREBS & HAMBIDGE,

2010), assim como em situações que aumentam o catabolismo proteico muscular, por exemplo, a inanição ou trauma (KING, 2006).

A creatinina urinária esteve dentro dos valores de referência em ambos os grupos, entretanto o grupo OB apresentou valores maiores do que o CON. Guidone et al. (2012) observaram correlação positiva da creatinina urinária com o IMC, sendo a excreção de creatinina maior em indivíduos com $IMC > 35 \text{ kg/m}^2$. A creatinina urinária é um índice preciso da massa muscular corpórea quando há ingestão adequada de nutrientes, podendo ter seus valores alterados durante consumo elevado de carnes, exercício físico vigoroso e infecções agudas (HEYMSFIELD et al., 1983).

Nesse estudo foram avaliadas as concentrações plasmáticas de MDA e de 8-isoprostano urinário nas participantes. Esses produtos da peroxidação lipídica são relativamente estáveis quando comparados com os próprios ERO's e ERN's, os quais são muito reativos e apresentam meia vida muito curta (DALLE-DONNE et al., 2006).

O grupo CON apresentou concentrações desses dois marcadores significativamente maiores do que o grupo OB. No entanto, os achados mais frequentes mostram concentrações maiores dos marcadores de estresse oxidativo na obesidade do que na eutrofia (VINCENT & TAYLOR, 2006). Olusi (2002) e Yesilbursa et al. (2005) observaram concentração de MDA plasmático maior em indivíduos obesos do que nos eutróficos e ainda uma correlação positiva entre IMC e MDA. Mulheres com obesidade do tipo androide apresentaram maiores concentrações de 8-isoprostano urinário quando comparadas às com obesidade ginoide e às eutróficas (DAVÌ et al., 2002). Estudo com ratos Zucker observou maior concentração de 8-isoprostano plasmático nos animais obesos do que nos magros (LAIGHT et al., 1999).

Baixas concentrações de ERO's e ERN's são necessárias para a manutenção do estado redox, da função e da sinalização celular. Entretanto, algumas situações como tabagismo, etilismo, prática de atividade física intensa, poluentes do ar, baixo consumo de antioxidantes, dieta rica em lipídios, diabetes e obesidade podem produzir esses radicais em excesso (BARBOSA et al., 2010; MØLLER; WALLIN; KNUDSEN, 1996; VINCENT & TAYLOR, 2006).

As análises de regressão multivariada revelaram que, nesse estudo, o MDA e o 8-isoprostano não sofreram influência do IMC nem dos biomarcadores de

Zn. Esses resultados contrastam com os de outros estudos que observaram correlação positiva dos marcadores de estresse oxidativo com o IMC (KEANEY et al., 2003; OLUSI, 2002) e correlação negativa desses marcadores com a concentração de Zn plasmático (OZATA et al., 2002).

Em nosso estudo foi demonstrado que a creatinina urinária teve correlação negativa e a prática de atividade física teve correlação positiva com o 8-isoprostano. Como o resultado de 8-isoprostano é corrigido pela creatinina urinária, já se esperava que as participantes com maior excreção de creatinina, no caso as obesas, apresentassem menor concentração de 8-isoprostano. Essa correlação inversa também foi observada por Keaney et al. (2003) em estudo em que as mulheres apresentaram menor excreção de creatinina e maior concentração de 8-isoprostano urinário em comparação aos homens.

O exercício físico de maior intensidade associado com exaustão aumenta o metabolismo oxidativo, induzindo o estresse oxidativo. Já a prática de exercícios físicos regulares provoca adaptações capazes de conter a geração de radicais livres, por aumento do conteúdo da cadeia transportadora de elétrons e aumento da atividade das enzimas antioxidantes (MØLLER; WALLIN; KNUDSEN, 1996). Estudo com mulheres adultas não observou correlação da atividade física com o 8-isoprostano, fato que foi justificado pelo pequeno intervalo entre os escores de atividade física (TOMEY et al., 2007). No presente estudo, muitas participantes foram consideradas ativas devido sua intensa rotina de trabalho e de serviços domésticos, fato que pode ter influenciado a correlação observada.

A glicemia e o consumo de energia e de lipídios associaram-se positivamente com o MDA plasmático. A correlação positiva da glicemia com o MDA pode ser explicada pelo fato de a glicose poder combinar-se diretamente com o LDL-c ou com a apolipoproteína B para formar produtos finais da glicosilação, que promovem a peroxidação lipídica (BUCALA et al., 1993). Estudos em animais e humanos observaram a mesma correlação entre a hiperglicemia e o MDA (KAEFER et al., 2012; TSURUTA et al., 2010). O consumo de dietas ricas em lipídios aumentou o MDA e outros marcadores do estresse oxidativo em indivíduos saudáveis (BLOOMER & FISHER-WELLMAN, 2002; TSAI et al., 2004). O consumo de dietas ricas em lipídios oxidados e oxidáveis leva a um aumento da concentração plasmática de hidroperóxidos de lipídio, fato que está associado a uma maior susceptibilidade de oxidação da LDL-c (URSINI & SEVANIAN, 2002).

Embora as participantes do grupo CON tenham apresentado IMC adequado, sendo consideradas eutróficas, a deficiência de outros nutrientes pode estar presente nesse grupo, contribuindo para o aumento dos marcadores de estresse oxidativo.

As atividades das enzimas SOD e GPx foram semelhantes entre os grupos OB e CON e apresentaram valores normais, com uma pequena elevação da atividade da SOD. Olusi (2002) observou atividade dessas enzimas significativamente maior em indivíduos saudáveis do que nos obesos. Homens obesos apresentaram menor atividade das enzimas SOD e GPx do que os eutróficos (OZATA et al., 2002).

Por outro lado, Ferro et al. (2011a) observaram atividade semelhante da SOD entre mulheres obesas e eutróficas e maior atividade da GPx nas obesas. Vincent et al. (1999) também não observaram diferença na atividade das enzimas SOD e GPx entre ratos Zucker obesos e magros. Os diferentes achados podem estar relacionados com a duração da obesidade, em que há um aumento inicial da atividade das enzimas antioxidantes e posterior depleção de suas fontes (OLUSI, 2002). Não foi observada diferença nas atividades das enzimas antioxidantes entre os três graus de obesidade, sugerindo que as participantes já se encontravam há muito tempo em estado crônico de obesidade.

Na análise dos polimorfismos, foram observadas apenas duas participantes heterozigotas (3,33%) para o SNP +35A/C no grupo OB e uma participante (1,82%) no grupo CON. Essas frequências são baixas quando comparadas com os achados de outros estudos. Em 120 indivíduos diabéticos tipo I, 48% eram selvagens, 42% heterozigotos e 10% homozigotos para o polimorfismo. Já entre os controles (n = 180), 27% eram selvagens, 50% heterozigotos e 23% homozigotos para o polimorfismo (FLEKAC et al., 2008).

Não se encontrou participantes com o alelo variante para o SNP Arg213Gli. Young et al. (2011) encontraram apenas 5 (2%) participantes heterozigotos e nenhum homozigoto para o polimorfismo entre 222 fumantes com doença pulmonar obstrutiva crônica. Entre 189 controles, 2 (1%) dos participantes eram homozigotos para o polimorfismo e 5 (3%) heterozigotos. É importante ressaltar que esses polimorfismos ainda não foram avaliados em indivíduos obesos.

8 CONCLUSÃO

Pode-se concluir a partir dos resultados obtidos neste estudo que os indivíduos obesos e eutróficos apresentaram deficiência de Zn, da ordem de 95,0% e de 92,7%, respectivamente, considerando para esta avaliação o Zn plasmático. O estresse oxidativo foi mais intenso para o grupo controle, possivelmente pelo fato de que os indivíduos foram selecionados apenas quanto ao IMC. Não foi observada correlação entre o IMC e os marcadores MDA e 8-isoprostano. Os polimorfismos objetos desse estudo não foram encontrados em níveis significantes que permitissem uma correlação com os parâmetros avaliados.

REFERÊNCIAS

ABDALLA, D. S. P.; SENA, K. C. M. Biomarcadores de peroxidação lipídica na aterosclerose. **Rev. Nutr.**, vol. 21, n. 6, p. 749-756, 2008.

ADACHI, T.; WANG, X. L. Association of extracellular-superoxide dismutase phenotype with the endothelial constitutive nitric oxide synthase polymorphism. **FEBS Lett.**, v. 433, n. 1-2, p. 166-168, 1998.

ADACHI, T.; TOISHI, T.; WU, H.; KAMIYA, T.; HARA, H. Expression of extracellular superoxide dismutase during adipose differentiation in 3T3-L1 cells. **Redox Report**, v. 14, n. 1, p. 34-40, 2009.

ANTONYUK, S. V.; STRANGE, R. W.; MARKLUND, S. L.; HASNAIN, S. S. The structure of human extracellular copper-zinc superoxide dismutase at 1.7 Å resolution: insights into heparin and collagen binding. **J. Mol. Biol.**, v. 388, n. 2, p. 310-326, 2009.

BARBOSA, K. B. F.; COSTA, N. M. B.; ALFENA, R. C. G.; DE PAULA, S. O.; MINIM, V. P. R.; BRESSAN, J. Estresse oxidativo: conceito, implicações e fatores modulatórios. **Rev. Nutr.**, v. 23, n. 4, p. 629-643, 2010.

BEGIN-HEICK, N.; DALPE-SCOTT, M.; ROWE, J.; HEICK, H. M. Zinc supplementation attenuates insulin secretory activity in pancreatic islets of the ob/ob mouse. *Diabetes*, v. 34, n. 2, p. 179-184, 1985.

BELL, S. G.; VALLEE, B. L. The Metallothionein/Thionein System: An Oxidoreductive Metabolic Zinc Link. **Chembiochem.**, v. 10, n. 1, p. 55-62, 2009.

BŁAŻEWICZ, A.; KLATKA, M.; ASTEL, A.; PARTYKA, M.; KOCJAN, R. Differences in trace metal concentrations (Co, Cu, Fe, Mn, Zn, Cd, And Ni) in whole blood, plasma, and urine of obese and nonobese children. **Biol. Trace Elem. Res.** v. 155, n. 2, p. 190-200, 2013.

BLOOMER, R. J.; FISHER-WELLMAN, K. H. Systemic oxidative stress is increased to a greater degree in young, obese women following consumption of a high fat meal. **Oxid. Med. Cell Longev.**, v. 2, n. 1, p. 19-25, 2009.

BONETTI, P. O.; LERMAN, L. O.; LERMAN, A. Endothelial Dysfunction: A Marker of Atherosclerotic Risk. **Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.**, v. 23, n. 2, p. 168-175, 2003.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Vigitel Brasil 2011: Vigilância de Fatores de Risco e Proteção para Doenças Crônicas por Inquérito Telefônico**. Brasília, 2012. 132 p.

BRESSAN, Suzana. Polimorfismos no gene da cobre, zinco – superóxido dismutase, estado nutricional relativo ao zinco e estresse oxidativo em pacientes com câncer da cavidade oral e orofaringe. São Paulo: Universidade de São Paulo, 2010. 81p.

BRIEFEL, R. R.; SEMPOS, C. T.; MCDOWELL, M. A.; CHIEN, S.; ALAIMO, K. Dietary methods research in the third National Health and Nutrition Examination Survey: underreporting of energy intake. *Am. J. Clin. Nutr.*, v. 65, 4 Suppl, p. 1203S-1209S, 1997.

BUCALA, R.; MAKITA, Z.; KOSCHINSKY, T.; CERAMI, A.; VLASSARA, H. Lipid advanced glycosylation: pathway for lipid oxidation in vivo. **Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.**, v. 90, n. 14, p. 6434-6438, 1993.

CHAUDHRI, O.; SMALL, C.; BLOOM, S. Gastrointestinal hormones regulating appetite. **Phil. Trans. R. Soc. B.**, v. 361, n. 1471, p. 1187-1209, 2006.

CHEN, M-D.; LIN, P-Y.; LIN, W-H.; CHENG, V. Zinc in hair and serum of obese individuals in Taiwan. *Am. J. Clin. Nutr.*, v. 48, n. 5, p. 1307-9, 1988.

CHEN, M-D.; LIN, P-Y.; SHEU, W. H-H. Zinc status in plasma of obese individuals during glucose administration. **Biol. Trace Elem. Res.**, v. 60, n. 1-2, p. 123-129, 1997.

CHEN, M-D.; LIOU, S-J.; LIN, P-Y.; YANG, V. C.; ALEXANDER, P. S.; LIN, W-H. Effects of zinc supplementation on the plasma glucose level and insulin activity in genetically obese (ob/ob) mice. **Biol. Trace Elem. Res.**, v. 61, n. 3, p. 303-311, 1998.

CHENG, G.; WU, H.; HUANG, Y. Simultaneous determination of malondialdehyde and ofloxacin in plasma using an isocratic high-performance liquid chromatography/fluorescence detection system. **Anal. Chim. Acta.**, v. 616, n. 2, p. 230-234, 2008.

COLLINS, F. S.; BROOKS, L. D.; CHAKRAVARTI, A. A DNA Polymorphism Discovery Resource for Research on Human Genetic Variation. **Genome Res.** v. 8, n. 12, p. 1229-31, 1998.

COMINETTI, C.; GARRIDO Jr, A. B.; COZZOLINO, S. M. F. Zinc Nutritional Status of Morbidly Obese Patients Before and After Roux-en-Y Gastric Bypass: A Preliminary Report. **Obes. Surg.**, v. 16, n. 4, p. 448-453, 2006.

COUSINS, R. J.; LEINART, A. S. Tissue-specific regulation of zinc metabolism and metallothionein genes by interleukin 1. **FASEB J.**, v. 2, n. 13, p. 2884-90, 1988.

DALLE-DONNE, I.; ROSSI, R.; COLOMBO, R.; GIUSTARINI, D.; MILZANI, A. Biomarkers of Oxidative Damage in Human Disease. **Clinical Chemistry**, v. 52, n. 4, p. 601-623, 2006.

DANDONA, P.; MOHANTY, P.; GHANIM, H.; ALJADA, A.; BROWNE, R.; HAMOUDA, W.; PRABHALA, A.; AFZAL, A.; GARG, R. The Suppressive Effect of Dietary Restriction and Weight Loss in the Obese on the Generation of Reactive Oxygen Species by Leukocytes, Lipid Peroxidation, and Protein Carbonylation. **J. Clin. Endocrinol. Metab.**, v. 86, n. 1, p. 355-362, 2001.

DARDENNE, M. Zinc and immune function. **Eur. J. Clin. Nutr.**, v. 56, Suppl.3, p. S20-S23, 2002.

DAVÌ, G.; GUAGNANO, M. T.; CIABATTONI, G.; BASILI, F.; FALCO, A.; MARINOPICCOLI, M.; NUTINI, M.; SENSI, S.; PATRONO, C. Platelet activation in obese women: role of inflammation and oxidant stress. **JAMA**, v. 288, n. 16, p. 2008-14, 2002.

ERNST, B.; THURNHEER, M.; SCHMID, S. M.; SCHULTES, B. Evidence for the necessity to systematically assess micronutrient status prior to bariatric surgery. **Obes. Surg.**, v. 19, n. 1, p. 66-73, 2009.

FAIRWEATHER-TAIT, S. J. Zinc in human nutrition. **Nutr. Res. Rev.**, v. 1, n. 1, p. 23-37, 1988.

FAO/WHO (Food and Agricultural Organization of the United Nations/ World Health Organization). **Human Vitamin and Mineral Requirements: Report of a joint FAO/WHO expert consultation**, Bangkok, Thailand. FAO: Rome, 2002.

FARACI, F. M.; DIDION, S. P. Vascular Protection: Superoxide Dismutase Isoforms in the Vessel Wall. **Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.** v. 24, n. 8, p. 1367-1373, 2004.

FAROOQI, I. S. FTO and Obesity: The Missing Link. **Cell Metab.**, v. 13, n. 1, p. 7-8, 2011.

FATTMAN, C. L.; SCHAEFER, L. M.; OURY, T. D. Extracellular superoxide dismutase in biology and medicine. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 35, n. 3, p. 236-256, 2003.

FERRO, F. E. D.; LIMA, V. B. S.; SOARES, N. R. M.; ALMONDES, K. G. S.; PIRES, L. V.; COZZOLINO, S. M. F.; MARREIRO, D. N. Parameters of metabolic syndrome and its

relationship with zincemia and activities of superoxide dismutase and glutathione peroxidase in obese women. **Biol. Trace Elem. Res.**, v. 143, n. 2, p. 787-793, 2011a.

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

FLEKAC, M.; SKRHA, J.; HILGERTOVA, J.; LACINOVA, Z.; JAROLIMKOVA, M. Gene polymorphisms of superoxide dismutases and catalase in diabetes mellitus. **BMC Medical Genetics**, v. 9, n. 30, p. 1-9, 2008.

FORMIGARI, A.; IRATO, P.; SANTON, A. Zinc, antioxidant systems and metallothionein in metal mediated-apoptosis: Biochemical and cytochemical aspects. **Comp. Biochem. Physiol.**, v. 146, n. 4, p. 443-459, 2007.

FORSBERG, L.; FAIRE, U.; MORGENSTERN, R. Oxidative Stress, Human Genetic Variation, and Disease. **Arch. Biochem. Biophys.**, v. 389, n. 1, p. 84-93, 2001.

FRIEDMAN, J. M.; HALAAS, J. L. Leptin and the regulation of body weight in mammals. **Nature**, v. 395, n. 6704, p. 763-770, 1998.

FUKAI, T.; USHIO-FUKAI, M. Superoxide Dismutases: Role in Redox Signaling, Vascular Function, and Diseases. **Antioxidants & Redox Signaling**, v. 15, n. 6, p. 1583-1605, 2011.

FURUKAWA, S.; FUJITA, T.; SHIMABUKURO, M.; IWAKI, M.; YAMADA, Y.; NAKAJIMA, Y.; NAKAYAMA, O.; MAKISHIMA, M.; MATSUDA, M.; SHIMOMURA, I. Increased oxidative stress in obesity and its impact on metabolic syndrome. **J. Clin. Invest.**, v. 114, n. 12, p. 1752-1761, 2004.

GAETKE, L. M.; MCCLAIN, C. J.; TALWALKAR, R. T.; SHEDLOFSKY, S. I. Effects of endotoxin on zinc metabolism in human volunteers. **Am. J. Physiol.**, v. 272, n. 6 Pt 1, p. E952-6, 1997.

GARCÍA, O. P.; RONQUILLO, D.; CAAMAÑO, M. C.; CAMACHO, M.; LONG, K. Z.; ROSADO, J. L. Zinc, vitamin A, and vitamin C status are associated with leptin concentrations and obesity in Mexican women: results from a cross-sectional study. **Nutrition & Metabolism**, v. 9, n. 59, p. 1-9, 2012.

GHATTAS, M. H.; ABO-ELMATTY, D. M. Association of Polymorphic Markers of the Catalase and Superoxide Dismutase Genes with Type 2 Diabetes Mellitus. **DNA Cell Biol.**, v. 31, n. 11, p. 1598-1603, 2012.

GIBSON, R. S. Assessment of chromium, copper and zinc status. In: **Principles of nutritional assessment**. 1. ed. New York: Oxford University, 1990. p. 543-53.

GIBSON, R. S. Assessment of chromium, copper and zinc status. In: **Principles of nutritional assessment**. 2. ed. New York: Oxford University, 2005. p. 711-722.

GIBSON, R. S.; HESS, S. Y.; HOTZ, C.; BROWN, K. H. Indicators of zinc status at the population level: a review of the evidence. **British Journal of Nutrition**, v. 99, Suppl. 3, S14-S23, 2008.

GREENBERG, A. S.; OBIN, M. S. Obesity and the role of adipose tissue in inflammation and metabolism. **Am. J. Clin. Nutr.**, v. 83, n. 2, p. 461S-465S, 2006.

GUIDONE, C.; GNIULI, D.; CASTAGNETO-GISSEY, L.; LECCESI, L.; ARRIGHI, E.; IACONELLI, A.; MINGRONE, G. Underestimation of urinary albumin to creatinine ratio in morbidly obese subjects due to high urinary creatinine excretion. **Clin. Nutr.**, v. 31, n. 2, p. 212-216, 2012.

GUTHRIE, H. A.; PICCIANO, M. F. Micronutrient minerals. In: GUTHRIE, H. A.; PICCIANO, M. F. **Human nutrition**. 1. ed. New York: Mosby, 1994. p. 351-357.

HAMBIDGE, M.; KREBS, N. Assessment of Zinc Status in Man. **Indian J Pediatr.**, v. 62, n. 2, p. 169-180, 1995.

HAMBIDGE, M. Human Zinc Deficiency. **J. Nutr.**, v. 130, Suppl. 5S, p. 1344S-1349S, 2000.

HEYMSFIELD, S. B.; ARTEAGA, C.; MCMANUS, C.; SMITH, J.; MOFFITT, S. Measurement of muscle mass in humans: validity of the 24-hour urinary creatinine method. **Am. J. Clin. Nutr.**, v. 37, n. 3, p. 478-494, 1983.

HEITMANN, B. L.; LISSNER, L. Dietary underreporting by obese individuals-is it specific or non-specific? **BMJ.**, v. 311, n. 7011, p. 986-989, 1995.

HENRIQUES, G. S.; HIRATA, M. H.; COZZOLINO, S. M. F. Aspectos recentes da absorção e biodisponibilidade do zinco e suas correlações com a fisiologia da isoforma testicular da Enzima Conversora de Angiotensina. **Rev. Nutr.**, v. 16, n. 3, p. 333-345, 2003.

HILL, J. O.; PETERS, J.C. Environmental contributions to the obesity epidemic. **Science**, v. 280, n. 5368, p. 1371-4, 1998.

IOM (Institute of Medicine). **Dietary Reference Intakes for Vitamin A, Vitamin K, Arsenic, Boron, Chromium, Copper, Iodine, Iron, Manganese, Molybdenum, Nickel, Silicon, Vanadium, and Zinc.** Washington, DC: The National Academies Press, 2000a.

IOM (Institute of Medicine). **Dietary Reference Intakes: applications in dietary assessment.** Washington, DC: The National Academies Press, 2000b.

IOM (Institute of Medicine). **Dietary Reference Intakes: Applications in Dietary Planning.** Washington, DC: The National Academies Press, 2003.

IOM (Institute of Medicine). **Dietary Reference Intakes for Energy, Carbohydrate, Fiber, Fat, Fatty Acids, Cholesterol, Protein, and Amino Acids (Macronutrients).** Washington, DC: The National Academies Press, 2005.

ISHIKAWA, Y.; KUDO, H.; KAGAWA, Y.; SHINOBU SAKAMOTO. Increased plasma levels of zinc in obese adult females on a weight-loss program based on a hypocaloric balanced diet. **In Vivo**, v. 19, n. 6, p. 1035-1038, 2005.

JENEY, V.; ITOH, S.; WENDT, M.; GRADEK, Q.; USHIO-FUKAI, M.; HARRISON, D. G.; FUKAI, T. Role of Antioxidant-1 in Extracellular Superoxide Dismutase Function and Expression. **Circ. Res.**, v. 96, n. 7, p. 723-729, 2005.

JIMÉNEZ, E. G.; CORDERO, M. J. A.; GARCÍA, C. J. G.; LÓPEZ, P. A. G.; FERRE, J. A.; LÓPEZ, C. A. P. Leptina: um péptido com potencial terapêutico em sujeitos obesos. **Endocrinol. Nutr.**, v. 57, n. 7, p. 322-327, 2010.

JOHNSON, W. T.; JOHNSON, L. A. K.; LUKASKI, H. C. Serum superoxide dismutase 3 (extracellular superoxide dismutase) activity is a sensitive indicator of Cu status in rats. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 16, n. 11, p. 682-692, 2005.

KAEFER, M.; DE CARVALHO, J. A.; PIVA, S. J.; DA SILVA, D. B.; BECKER, A. M.; SANGOI, M. B.; ALMEIDA, T. C.; HERMES, C. L.; COELHO, A. C.; TONELLO, R. MOREIRA, A. P.; GARCIA, S. C. MORETTO, M. B.; MORESCO, R. N. Plasma malondialdehyde levels and risk factors for the development of chronic complications in type 2 diabetic patients on insulin therapy. **Clin. Lab.**, v. 59, n. 9-10, p. 973-8, 2012.

KEANEY, J. F. JR.; LARSON, M. G.; VASAN, R. S.; WILSON, P. W.; LIPINSKA, I.; COREY, D.; MASSARO, J. M.; SUTHERLAND, P.; VITA, J. A.; BENJAMIN, E. J.; FRAMINGHAM STUDY. Obesity and systemic oxidative stress: clinical correlates of oxidative stress in the Framingham Study. **Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.**, v. 23, n. 3, p. 434-439, 2003.

KEILIN, D.; MANN, J. Carbonic anhydrase. Purification and nature of the enzyme. **Biochem. J.**, v. 34, n. 8-9, p. 1163-76, 1940.

KENNEDY, M. L; FAILLA, M. L. Zinc Metabolism in Genetically Obese (ob/ob) Mice 1'2. **J. Nutr.**, v. 117, n. 5, p. 886-893, 1987.

KILLERICH, S.; CHRISTENSEN, M. S.; NAESTOFT, J.; CHRISTIANSE, C. Determination of zinc in serum and urine by atomic absorption spectrophotometry; relationship between serum levels of zinc and proteins in 104 normal subjects. **Clin. Chim. Acta.**, v. 105, n. 2, p. 231-239, 1980.

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

KING, J. C. Zinc. In: SHILS, M. E.; SHIKE, M. **Modern Nutrition in Health and Disease**. 10. ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2006. p. 271-285.

KLEVAY, L. M. Bariatric surgery and the assessment of copper and zinc nutriture. **Obes. Surg.**, v. 20, n. 5, p. 672-673, 2010.

KLOK, M. D.; JAKOBSDOTTIR, S.; DRENT, M. L. The role of leptin and ghrelin in the regulation of food intake and body weight in humans: a review. **Obes. Rev.**, v. 8, n. 1, p. 21-34, 2006.

KOPELMAN, P. G. Obesity as a medical problem. **Nature**, v. 404, n. 6778, p. 635-643, 2000.

KREBS, N. F. Overview of Zinc Absorption and Excretion in the Human Gastrointestinal Tract. **J. Nutr.**, v. 130, 5S Suppl, p. 1374S-1377S, 2000.

KREBS, N. F; HAMBIDGE, K. Zinc metabolism and homeostasis: The application of tracer techniques to human zinc physiology. In: MARET, W. **Zinc Biochemistry, Physiology, and Homeostasis: Recent Insights and Current Trends**. Springer, 2010. p. 397-412.

LAIGHT, D. W.; DESAI, K. M.; GOPAUL, N. K.; ANGGÅRD, E. E.; CARRIER, M. J. F2-isoprostane evidence of oxidant stress in the insulin resistant, obese Zucker rat: effects of vitamin E. **Eur. J. Pharmacol.**, v. 377, n. 1, p. 89-92, 1999.

LARSTAD, M.; LJUNGKVIST, G.; OLIN, A. C.; TOREN, K. Determination of malondialdehyde in breath condensate by high-performance liquid chromatography with fluorescence detection. **J. Chromatogr. B.**, v. 766, n. 1, p. 107-114, 2002.

LAU, D. C. W.; DHILLON, B.; YAN, H.; SZMITKO, P. E.; VERMA, S. Adipokines: molecular links between obesity and atherosclerosis. **Am. J. Physiol. Heart. Circ. Physiol.**, v. 288, n. 5, p. H2031-H2041, 2005.

LIUZZI, J. P.; COUSINS, R. J. Mammalian zinc transporters. **Annu. Rev. Nutr.**, v. 24, p. 151-172, 2004.

LIUZZI, J. P.; LICHTEN, L. A.; RIVERA, S.; BLANCHARD, R. K.; AYDEMIR, T. B.; KNUTSON, M. D.; GANZ, T.; COUSINS, R. J. Interleukin-6 regulates the zinc transporter Zip-14 in liver and contributes to the hypozincemia in the acute-phase response. **Proc. Natl. Acad. Sci.**, v. 102, n. 19, p. 6843-48, 2005.

LÖNNERDAL, B. Dietary Factors Influencing Zinc Absorption. **J. Nutr.**, v. 130, 5S Suppl, p. 1378S-1383S, 2000.

LOW, S.; CHIN, M. C.; DEURENBERG-YAP, M. Review on Epidemic of Obesity. **Ann. Acad. Med. Singapore**, v. 38, n. 1, p. 57-65, 2009.

LUIS, D. A.; PACHECO, D.; IZAOLA, O.; TERROBA, M. C.; CUELLAR, L.; CABEZAS, G. Micronutrient status in morbidly obese women before bariatric surgery. **Surg. Obes. Relat. Dis.**, v. 9, n. 2, p. 323-7, 2011.

LWANGA, S.K.; LEMESHOW, S. Sample size determination in health studies – A practical manual. **World Health Organization**. Geneva, 1991.

MACDONALD, R. S. The Role of Zinc in Growth and Cell Proliferation. **J. Nutr.**, v. 130, 5S Suppl, p. 1500S-1508S, 2000.

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

MAIESE, K.; CHONG, Z. Z.; SHANG, Y. C. Mechanistic Insights into Diabetes Mellitus and Oxidative Stress. **Curr. Med. Chem.**, v. 14, n. 16, p. 1729-1738, 2007.

MARKLUND, S. L.; NILSSON, P.; ISRAELSSON, K.; SCHAMPI, I.; PELTONEN, M.; ASPLUND, K. Two variants of extracellular-superoxide dismutase: relationship to cardiovascular risk factors in an unselected middle-aged population. **J. Intern. Med.**, v. 242, p. 5-14, 1997.

MARREIRO, D. N.; FISBERG, M.; COZZOLINO, S. M. F. Zinc nutritional status in obese children and adolescents. **Biol. Trace Elem. Res.**, v. 86, n. 2, p. 107-22, 2002.

MATSUDO, S. M.; ARAÚJO, T. L.; MATSUDO, V. K. R.; ANDRADE, D. R.; ANDRADE, E. L.; OLIVEIRA, L. C.; BRAGGION, G. Questionário Internacional de Atividade Física (IPAQ): estudo de validade e reprodutibilidade no Brasil. **Rev. Bras. Ativ. Saude.**, v. 6, n. 2, p. 5-18, 2001.

MCCALL, K. A.; HUANG, C.; FIERKE, C. A. Function and Mechanism of Zinc Metalloenzymes. **J. Nutr.**, v. 130, p. 1437S-1446S, 2000.

MIAO, L.; CLAIR, D. K. St. Regulation of superoxide dismutase genes: Implications in disease. **Free Radic. Biol. Med.**, v. 47, n. 4, p. 344-356, 2009.

MØLLER, P.; WALLIN, H.; KNUDSEN, L. E. Oxidative stress associated with exercise, psychological stress and life-style factors. **Chem. Biol. Interact.**, v. 102, n. 1, p. 17-36, 1996.

NOZIK-GRAYCK, E.; SULIMAN, H. B.; PIANTADOSI, C. A. Extracellular superoxide dismutase. **Int. J. Biochem. Cell Biol.**, v. 37, n. 12, p. 2466-71, 2005.

OLUSI, S. O. Obesity is an independent risk factor for plasma lipid peroxidation and depletion of erythrocyte cytoprotective enzymes in humans. **Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord.**, v. 26, n. 9, p. 1159-64, 2002.

OZATA, M.; MERGEN, M.; OKTENLI, C.; AYDIN, A.; SANISOGLU, S. Y.; BOLU, E.; YILMAZ, M. I.; SAYAL, A.; ISIMER, A.; OZDEMIR, I. C. Increased oxidative stress and hypozincemia in male obesity. **Clinical Biochemistry**, v. 35, n. 8, p. 627-631, 2002.

PAGLIA, D. E.; VALENTINE, W. N. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. **J. Lab. Clin. Invest.**, v. 70, n. 1, p. 158-69, 1976.

PANDURU, N. M.; CIMPONERIU, D.; CRUCE, M.; ION, D. A.; MOȚA, E.; MOȚA, M.; SERAFINCEANU, C.; CHIVU, L. I.; PANDURU, M.; CHIVU, R. D.; COVIC, A. C. Association of +35A/C (intron3/exon3) polymorphism in SOD1-gene with diabetic nephropathy in type 1 diabetes. **Rom. J. Morphol. Embryol.**, v. 51, n. 1, p. 37-41, 2010.

PEREIRA, M. G. **Epidemiologia: Teoria e Prática**. 1. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1995.

PERRONE, L.; GIALANELLA, G.; MORO, R.; FENG, S. L.; BOCCIA, E.; PALOMBO, G.; CARBONE, M. T.; DI TORO, R. Zinc, copper, and iron in obese children and adolescents. **Nutrition Research**, v. 18, n. 2, p. 183-189, 1998.

PETERSEN, S. V.; OLSEN, D. A.; KENNEY, J. M.; OURY, T. D.; VALNICKOVA, Z.; THØGERSEN, I. B.; CRAPOŠ, J. D.; ENGHILD, J. J. The high concentration of Arg213→Gly extracellular superoxide dismutase (EC-SOD) in plasma is caused by a reduction of both heparin and collagen affinities. **Biochem. J.**, v. 385, Pt. 2, p. 427-32, 2005.

POPKIN, B. M.; DOAK, C. M. The obesity epidemic is a worldwide phenomenon. **Nutr. Rev.**, v. 56, 4 Pt 1, p. 106-114, 1998.

PORTELA, M. L.; WEISSTAUB, A. R. Basal Urinary Zinc/Creatinine Ratio as an Indicator of Dietary Zinc Intake in Healthy Adult Women. **J. Am. Coll. Nutr.**, v. 19, n. 3, p. 413-417, 2000.

POWELL, S. R. The Antioxidant Properties of Zinc. **J. Nutr.**, v. 130, 5S Suppl., p. 1447S-1454S, 2000.

PRASAD, A. S. Zinc in Human Health: Effect of Zinc on Immune Cells. **Mol. Med.**, v. 14, n. 5-6, p. 353-357, 2008.

PRASAD, A. S. Zinc: role in immunity, oxidative stress and chronic inflammation. **Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care**, v. 12, n. 6, p. 646-652, 2009a.

PRASAD, A. S. Impact of the Discovery of Human Zinc Deficiency on Health. **J. Am. Coll. Nutr.**, v. 28, n. 3, p. 257-265, 2009b.

PROUDFOOT, J.; BARDEN, A.; MORI, T. A.; BURKE, V.; CROFT, K. D.; BEILIN, L. J.; PUDDEY, I. B. Measurement of Urinary F2-Isoprostanes as Markers of *in Vivo* Lipid Peroxidation - A Comparison of Enzyme Immunoassay with Gas Chromatography/Mass Spectrometry. **Analytical Biochemistry**, v. 272, n. 2, p. 209-215, 1999.

RINK, L.; KIRCHNER, H. Zinc-Altered Immune Function and Cytokine Production. **J. Nutr.**, v. 130, p. 1407S-1411S, 2000.

ROCHA, P. B. K. S.; AMORIM, A. C.; SOUSA, A. F.; MONTE, S. J. H.; SOUSA, L. C. D. M.; NOGUEIRA, N. N.; NETO, J. M. M.; MARREIRO, D. N. Expression of the Zinc Transporters Genes and Metallothionein in Obese Women. **Biol. Trace Elem. Res.**, v. 143, n. 2, p. 603-611, 2011.

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

RODRIGUEZ, S.; GAUNT, T. R.; DAY, I. N. M. Hardy-Weinberg Equilibrium Testing of Biological Ascertainment for Mendelian Randomization Studies. **Am. J. Epidemiol.**, v. 169, n. 4, p. 505-514, 2009.

ROJAS, P.; CARRASCO, F.; CODOCEO, J.; INOSTROZA, J.; BASFI-FER, K.; PAPAPIETRO, K.; CSENDES, A.; ROJAS, J.; PIZARRO, F.; OLIVARES, M.; RUZ, M. Trace element status and inflammation parameters after 6 Months of Roux-en-Y gastric bypass. **Obes. Surg.**, v. 21, n. 5, p. 561-568, 2011.

RUTTER, G. A. Think zinc: New roles for zinc in the control of insulin secretion. **Islets.**, v. 2, n. 1, p. 49-50, 2010.

SALGUEIRO, M. J.; ZUBILLAGA, M.; LYSIONEK, A.; SARABIA, M. I.; CARE, R.; DE PAOLI, T.; HAGER, A.; WEILL, R.; BOCCIO, J. Zinc as an essential micro nutrient: a review. **Nutr. Res.**, v. 20, n. 5, p. 737-755, 2000.

SÁNCHEZ, C.; JURADO, L. M.; PLANELLS, E.; LLOPIS, J.; ARANDA, P. Assessment of iron and zinc intake and related biochemical parameters in an adult Mediterranean population from southern Spain: influence of lifestyle factor. **J. Nutr. Biochem.**, v. 20, n. 2, p. 125-131, 2009.

SANDSTROM, J.; NILSSON, P.; KARLSSON, K.; MARKLUND, S. L. 10-fold increase in human plasma extracellular superoxide dismutase content caused by a mutation in heparin-binding domain. **J. Biol. Chem.**, v. 269, p. 19163-19166, 1994.

SLATER, B.; MARCHIONI, D. L.; FISBERG, R. M. Estimando a prevalência da ingestão inadequada de nutrientes. **Rev. Saude Publica**, v. 33, n. 4, p. 599-605, 2004.

SMIDT, K.; PEDERSEN, S. B.; BROCK, B.; SCHMITZ, O.; FISKER, S.; BENDIX, J.; WOGENSEN, L.; RUNGBY, J. Zinc-transporter genes in human visceral and subcutaneous adipocytes: Lean versus obese. **Mol. Cell. Endocrinol.** v. 264, n. 1-2, p. 68-73, 2007.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES. **Diretrizes da Sociedade Brasileira de Diabetes 2009**. 3. ed. Itapevi, SP: 2009. 332p.

STEFANIDOU, M.; MARAVELIAS, C.; SPILIOPOULOU, A. D. C. Zinc: a multipurpose trace element. **Arch. Toxicol.**, v. 80, n. 1, p. 1-9, 2006.

TANG, X.; SHAY, N. F. Zinc has an insulin-like effect on glucose transport mediated by phosphoinositol-3-kinase and Akt in 3T3-L1 fibroblasts and adipocytes. **J. Nutr.**, v. 131, n. 5, p. 1414-20, 2001.

TAPIERO, H.; TEW, K. D. Trace elements in human physiology and pathology: zinc and metallothioneins. **Biomed. Pharmacother.**, v. 57, n. 9, p. 399-411, 2003.

TOMEY, K. M.; SOWERS, M. R.; LI, X.; MCCONNELL, D. S.; CRAWFORD, S.; GOLD, E. B.; LASLEY, B.; RANDOLPH, J. F. Jr. Dietary fat subgroups, zinc, and vegetable components are related to urine F2a-isoprostane concentration, a measure of oxidative stress, in midlife women. **J. Nutr.**, v. 137, n. 11, p. 2412-9, 2007.

TRAYHURN, P.; WOOD, I. S. Adipokines: inflammation and the pleiotropic role of white adipose tissue. **Brit. J. Nutr.**, v. 92, n. 3, p. 347-355, 2004.

TRUONG-TRAN, A. Q.; HO, L. H.; CHAI, F.; ZALEWSKI, P. D. Cellular Zinc Fluxes and the Regulation of Apoptosis/Gene-Directed Cell Death. **J. Nutr.**, v. 130, p. 1459S-1466S, 2000.

TSAI, W. C.; LI, Y. H.; LIN, C. C.; CHAO, T. H.; CHEN, J. H. Effects of oxidative stress on endothelial function after a high-fat meal. **Clin. Sci. (Lond)**, v. 106, n. 3, p. 315-319, 2004.

TSURUTA, R.; FUJITA, M.; ONO, T.; KODA, Y.; KOGA, Y.; YAMAMOTO, T.; NANBA, M.; SHITARA, M.; KASAOKA, S.; MARUYAMA, I.; YUASA, M.; MAEKAWA, T. Hyperglycemia enhances excessive superoxide anion radical generation, oxidative stress, early inflammation, and endothelial injury in forebrain ischemia/reperfusion rats. **Brain Res.**, v. 1309, p. 155-63, 2010.

TUERK, M. J.; FAZEL, N. Zinc deficiency. **Curr. Opin. Gastroenterol.**, v. 25, p. 136-143, 2009.

URAKAWA, H.; KATSUKI, A.; SUMIDA, Y.; GABAZZA, E. C.; MURASHIMA, S.; MORIOKA, H.; MARUYAMA, N.; KITAGAWA, N.; TANAKA, T.; HORI, Y.; NAKATANI, K.; YANO, Y.; ADACHI, Y. Oxidative Stress Is Associated with Adiposity and Insulin Resistance in Men. **J. Clin. Endocrinol. Metab.**, v. 88, p. 4673-4676, 2003.

URSINI, F.; SEVANIAN, A. Postprandial oxidative stress. **Biol. Chem.**, v. 383, n. 3-4, p. 599-605, 2002.

VASCONCELOS, S. M. L.; GOULART, M. O. F.; MOURA, J. B. F.; MANFREDINI, V.; BENFATO, M. S.; KUBOTA, L. T. Espécies reativas de oxigênio e de nitrogênio,

antioxidantes e marcadores de dano oxidativo em sangue humano: principais métodos analíticos para sua determinação. **Quim. Nova**, v. 30, n. 5, p. 1323-1338, 2007.

VINCENT, H. K.; POWERS, S. K.; STEWART, D. J.; SHANELY, R. A.; DEMIREL, H.; NAITO, H. Obesity is associated with increased myocardial oxidative stress. **Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord.**, v. 23, n. 1, p. 67-74, 1999.

VINCENT, H. K.; TAYLOR, A. G. Biomarkers and potential mechanisms of obesity-induced oxidant stress in humans. **Int. J. Obes. (Lond)**, v. 30, n. 3, p. 400-418, 2006.

WALLEY, A. J.; ASHER, J. E.; FROGUEL, P. The genetic contribution to non-syndromic human obesity. **Nat. Rev. Genet.**, v. 10, n. 7, p. 31-442, 2009.

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

WILLETT, W. C.; HOWE, G. R.; KUSHI, L. H. Adjustment for total energy intake in epidemiologic studies. **Am. J. Clin. Nutr.**, v. 65, 4 Suppl, p. 1220S-1228S, 1997.

WISSE, B. E. The Inflammatory Syndrome: The Role of Adipose Tissue Cytokines in Metabolic Disorders Linked to Obesity. **J. Am. Soc. Nephrol.**, v. 15, n. 11, p. 2792-2800, 2004.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Obesity**: Preventing and Managing the Global Epidemic. Geneva, 2000. 253 p.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **World Health Statistics 2012**: A Snapshot of Global Health. Geneva, 2012. 12 p.

XAVIER, H. T. et al. Sociedade Brasileira de Cardiologia. V Diretriz Brasileira de Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose. **Arq. Bras. Cardiol.**, p. 62-94, 2013.

YAMADA, H.; YAMADA, Y.; ADACHI, T.; GOTO, H.; OGASAWARA, N.; FUTENMA, A.; KITANO, M.; HIRANO, K.; KATO, K. Molecular analysis of extracellular-superoxide dismutase gene associated with high level in serum. **J. Hum. Genet.**, v. 40, n. 2, p. 177-184, 1995.

YESILBURSA, D.; SERDAR, Z.; SERDAR, A.; SARAC, M.; COSKUN, S.; JALE, C. Lipid peroxides in obese patients and effects of weight loss with orlistat on lipid peroxides levels. **Int. J. Obes. (Lond)**, v. 29, n. 1, p. 142-145, 2005.

APÊNDICES

APÊNDICE A – FORMULÁRIO DE DADOS SOCIECONÔMICOS, ANTROPOMÉTRICOS E BIOQUÍMICOS

Data: ____/____/____

Nome: _____

Endereço: _____

Telefones: () _____

E-mail: _____

v.1. Iniciais: _____	v.1
v.2. Idade: _____ Data de nascimento: ____/____/____	v.2
v.3. Naturalidade: 1.() São Paulo 2.() Interior SP 3. Outro: _____	v.3
v.4. Estado Civil: 1.() Solteiro(a) 2.() Casado(a)/união estável 3.() Separado(a)/desquitado(a)/divorciado(a) 4.() Viúvo(a)	v.4
v.5. Você considera-se (etnia): 1.() Branco(a) 2.() Negro(a) 3.() Pardo(a)/mulato(a) 4.() Amarelo (de origem oriental) 5.() Indígena ou de origem indígena	v.5
v.6. Grau de instrução: 1.() Nenhuma escolaridade 2.() Ens. Fund. Incomp. 3.() Ens. Fund. Comp. 4.() Ens. Médio incomp. 5.() Ens. Médio compl. 6.() Ens. Superior comp. 7.() Ens. Superior comp.	v.6
v.7. Renda Familiar (salário mínimo R\$ 622,00): 1.() Menos de 1 SM 2.() 1 SM 3.() De 1 a 2 SM 4.() De 2 a 5 SM 5.() De 5 a 10 SM 6.() Acima de 10 SM	v.7
v.8. Profissão: _____	v.8
v.9. Filhos: 1.() Sim 2.() Não	v.9
v.10. Tabagismo: 1.() Nunca fumou 2.() Ex-fumante	v.10
v.11. Ingestão de bebida alcoólica: 1.() Sim 2.() Não Frequência: () Até 1 a 2x/mês () 1x/semana () 2 a 3x/semana ou mais	v.11
v.12. Nível de Atividade Física (IPAQ): 1.() Sedentário 2.() Insuficientemente ativo 3.() Ativo 4.() Muito ativo	v.12
v.13. Histórico de doenças na família: 1.() Obesidade 2.() Diabetes 3.() HAS 4.() DCV 5.() Câncer 6.() Outro: _____	v.13
v.14. Hipertensão Arterial: 1.() Sim 2.() Não	v.14
v.15. Diabetes: 1.() Sim 2.() Não	v.15

Se sim:	1.1.() Tipo I	1.2.() Tipo II	
v.16. Doença cardiovascular:	1.() Sim	2.() Não	v.16
v.17. Outra(s) patologia(s): _____			v.17
v.18. Medicamentos em uso:	1.() Sim	2.() Não	v.18
Se sim, qual? _____			

FORMULÁRIO DE DADOS ANTROPOMÉTRICOS

v.19. Peso (kg): _____	v.19
v.20. Altura (m): _____	v.20
v.21. IMC (kg/m ²): _____	v.21
v.22. Classificação nutricional: 1.() Obesidade grau I (30<IMC<34,9) 2.() Obesidade grau II (35<IMC<39,9) 3.() Eutrofia (18,5<IMC<24,9)	v.22
v.23. Circunferência da cintura (cm): _____	v.23
v.25. Percentual de gordura corporal: _____	v.25

FORMULÁRIO DE DADOS BIOQUÍMICOS

v.26. Colesterol total (mg/dL): _____ 1.() Desejável (<200) 2.() Limítrofe (200-239) 3.() Elevado (>240)	v.26
v.27. LDL colesterol: (mg/dL): _____ 1.() Ótimo (<100) 2.() Subótimo (100-129) 3.() Limítrofe (130-159) 4.() Elevado (160-189) 5.() Muito elevado (>190)	v.27
v.28. HDL colesterol (mg/dL): _____ 1.() Baixo (<40) 2.() Elevado/desejável (≥60)	v.28
v.29. Triglicérides (mg/dL): _____ 1.() Normal (<150) 2.() Limítrofe (150-199) 3.() Elevado (200-499) 4.() Muito elevado (>500)	v.29
v.30. Glicemia de jejum (mg/dL): _____ 1.() Normal (<100) 2.() Glicemia alterada (100-125) 3.() Diabetes (≥126 em duas amostras ≠)	v.30

APÊNDICE B – RECORDATÓRIO ALIMENTAR DE 24h

RECORDATÓRIO ALIMENTAR DE 24 HORAS

[illegible]

Quantas pessoas residem na mesma casa: _____

Quanto tempo dura uma lata de óleo (900 mL): _____

Quanto tempo dura um pacote de sal (1 kg): _____

APÊNDICE C – INFORMATIVO ILUSTRADO SOBRE A IMPORTÂNCIA DO ZINCO

A IMPORTÂNCIA DO ZINCO PARA A SAÚDE E SUAS FONTES ALIMENTARES

Zn

Elaborado por:

Isabela Saraiva
Mestranda em Ciência dos Alimentos - USP
(11) 8288.9160
isabelasaraiva@yahoo.com.br

IMPORTÂNCIA DO ZINCO

O zinco (Zn) é um mineral muito importante para a saúde e o crescimento do organismo humano e é um dos mais abundantes em nosso corpo. Suas principais funções são:

- Participar de enzimas envolvidas na produção do material genético, o DNA e o RNA;
- Desempenhar função no sistema imunológico, sendo muito importante para as defesas do corpo contra infecções;
- Seu papel como antioxidante, protegendo as células do corpo contra os danos causados pelos radicais livres;
- Participar da produção e liberação de hormônios como a insulina, testosterona e hormônio do crescimento.

FONTES ALIMENTARES

As principais fontes de zinco são carnes bovina, de frango e de peixe, fígado, mariscos como camarão e ostras, grãos integrais (aveia, arroz integral), castanhas e gérmen de trigo.

APÊNDICE D – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

**Hospital Das Clínicas Da Faculdade De Medicina Da Universidade De São Paulo
Serviço de Endocrinologia e Metabologia**

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

INFORMAÇÕES DO SUJEITO DA PESQUISA

Nome:			
Documento de Identidade nº:		Sexo: () M () F	
Data de Nascimento: / /			
Endereço:	Nº	Complemento:	
Bairro:	Cidade:	Estado:	
CEP:	Telefones:		

DADOS SOBRE A PESQUISA

1. Título do Projeto de Pesquisa: Estado nutricional relativo ao zinco e sua relação com o estresse oxidativo e com o polimorfismo Arg213Gly no gene da SOD3 em uma população de indivíduos obesos.	
2. Duração da Pesquisa: 2 anos (coleta de dados – 6 meses)	
3. Nome do pesquisador responsável: Alfredo Halpern	
Cargo/ Função: Professor titular	Nº do Registro do Conselho Regional: 12535
Instituição: Serviço de Endocrinologia e Metabologia - HCFMUSP	

Você está sendo convidada a participar como voluntária de uma pesquisa cujo título é “**Estado nutricional relativo ao zinco e sua relação com o estresse oxidativo e com o polimorfismo Arg213Gli no gene da SOD3 em uma população de indivíduos obesos**”. Esse estudo está sendo conduzido pelo pesquisador responsável Dr. Alfredo Halpern, chefe do Grupo de Obesidade e Síndrome Metabólica do Serviço de Endocrinologia do Hospital das Clínicas, da FMUSP (USP). A realização dessa pesquisa será importante para avaliar a relação do mineral zinco com os mecanismos de defesa antioxidante do organismo e ainda, descobrir um pouco mais sobre o envolvimento do polimorfismo Arg213Gli no gene que codifica para a enzima da SOD3 e sua relação com o estado nutricional de indivíduos obesos em relação ao zinco.

Através dessa pesquisa será possível verificar: se você consome quantidades adequadas de zinco em sua alimentação, como está a quantidade desse mineral no seu sangue e urina, sua composição corporal, a presença de estresse oxidativo, o perfil lipídico (triglicerídeos, colesterol total, HDL colesterol, LDL colesterol e VLDL colesterol), e a frequência do polimorfismo Arg213Gli no gene que codifica para a enzima superóxido dismutase 3.

Caso concorde em participar, será aplicado um questionário, a fim de se obter informações sócio-econômicas, de detectar a presença de doenças crônicas não-transmissíveis, uso de medicamentos ou suplementos vitamínicos. Será aplicado também um Recordatório 24 horas com o intuito de analisar sua alimentação durante três dias não-consecutivos. Após a aplicação desse questionário, será realizada uma avaliação antropométrica a fim de aferir seu peso, altura e composição corporal objetivando obter, posteriormente, sua classificação nutricional. Precisaremos fazer uma coleta do seu sangue (20 mL) por punção periférica da veia do antebraço, antes do café da manhã (jejum de 12 horas), que será realizada no Hospital das Clínicas da Universidade de São Paulo, e pediremos que você colete e armazene toda a urina de um dia inteiro em um frasco que será fornecido por nós, e mantenha esse frasco em geladeira.

Os desconfortos e riscos da pesquisa são mínimos. Você poderá sentir tonturas por estar em jejum para fazer o exame e/ou poderá ficar, por um tempo, com uma pequena mancha arroxeadada no local da coleta de sangue. O exame será feito por uma pessoa experiente.

Em qualquer etapa da pesquisa, você terá acesso aos profissionais responsáveis pela pesquisa para ter informações sobre a mesma. Você não receberá nenhum pagamento para participar e poderá retirar-se do estudo a qualquer momento, sem nenhum prejuízo no seu tratamento. Não há nenhum benefício direto para o participante da pesquisa. Os resultados dessa pesquisa serão divulgados apenas em revistas e congressos científicos, e o seu nome e identidade serão mantidos em segredo. Você será mantida atualizada sobre os resultados parciais da pesquisa e terá acesso ao resultado dos seus exames.

Caso você tenha alguma dúvida, seguem os dados do grupo para que entre em contato:

Isabela Saraiva de Almeida: Departamento de Alimentos e Nutrição Experimental da Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Bloco 14, no Campus da Universidade de São Paulo, Av. Prof. Lineu Prestes, nº 580, Butantã, São Paulo-SP. CEP: 05508-900. Telefones: (11) 3091.3625, (11) 8288.9160. E-mail: isabelasaraiva@usp.br

Comitê de Ética em Pesquisas – Rua Ovídio Pires de Campos, 225 – 5º andar. Telefones: (11) 2661-6442 ramais 16, 17, 18 ou 20. E-mail: cappesq@hcnet.usp.br

Acredito ter sido suficientemente informado a respeito das informações que li ou que foram lidas para mim, descrevendo o estudo “Estado nutricional relativo ao zinco e sua relação com o estresse oxidativo e com o polimorfismo Arg213Gly no gene da SOD3 em uma população de indivíduos obesos”. Eu discuti com o Dr^a. Isabela Saraiva sobre a minha decisão em participar nesse estudo. Ficaram claros para mim quais são os propósitos do estudo, os procedimentos a serem realizados, seus desconfortos e riscos, as garantias de confidencialidade e de esclarecimentos permanentes. Ficou claro também que minha participação é isenta de despesas e que tenho garantia do acesso a tratamento hospitalar quando necessário. Concordo voluntariamente em participar deste estudo e poderei retirar o meu consentimento a qualquer momento, antes ou durante o mesmo, sem penalidades ou prejuízo ou perda de qualquer benefício que eu possa ter adquirido, ou no meu atendimento neste Serviço.

Assinatura do participante

Data: ____/____/____

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

Assinatura do pesquisador responsável

Data: ____/____/____

ANEXOS

ANEXO 1 – NORMAS ESPECÍFICAS DA CPG DA FCF – USP

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

Depto. de Alimentos e Nutrição Experimental

CCP de Pós Graduação em Ciência dos Alimentos

Normas Específicas da CPG da FCF-USP (trecho)

VII - Exame de Qualificação

1. O exame de qualificação é obrigatório aos alunos dos programas de pós-graduação da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo nos cursos de Mestrado, Doutorado e Doutorado Direto.
2. **O exame de qualificação deve ser realizado no máximo até seis meses antes da data limite do curso do aluno (conforme Resolução CoPGr 5140, de 20/09/2004), após completados os créditos mínimos exigidos em disciplinas.**
 - 2.1. **O aluno que não se qualificar dentro do prazo será desligado do programa.**
3. O exame de qualificação consta de:
 - a) avaliação do projeto de pesquisa, apresentado por escrito na forma de uma monografia;
 - b) avaliação do projeto de pesquisa, apresentado oralmente na forma de uma aula expositiva;
 - c) avaliação do *curriculum* Lattes e do histórico escolar de pós-graduação do aluno.
- 3.1. Seis exemplares da monografia de qualificação deverão ser apresentados junto à Secretaria do Departamento responsável pelo Programa de Pós-Graduação do aluno com pelo menos 15 dias de antecedência em relação à data que se pretenda realizar o exame de qualificação.
 - 3.1.1. Junto com os exemplares, poderá ser encaminhada uma lista com as sugestões de nomes para a composição da Comissão Julgadora.
 - 3.1.2. A monografia de qualificação deve ser confeccionada de acordo com as normas da Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT) e apresentada com o aval do orientador.
 - 3.1.2.1. Havendo resultados e conclusões, os mesmos poderão ser incluídos no texto da monografia de qualificação.
 - 3.1.3. A monografia deverá ter um “anexo obrigatório”, no qual deverão constar:
 - a) cópia do inciso VII desta norma.
 - b) cópia da ficha do aluno (histórico escolar parcial), emitido pelo FenixWeb/Janus.
 - c) cópia do aval do Comitê de Ética em Pesquisa ou declaração conjunta do aluno e do orientador de que o trabalho dispensa análise do Comitê de Ética em Pesquisa e/ou Comitê de Ética em Experimentação Animal.
 - d) cópia do *curriculum* Lattes.

4. Cabe à Coordenadoria do Programa de Pós-Graduação indicar a Comissão Julgadora do Exame de Qualificação, composta por 3 (três) membros titulares e 3 (três) membros suplentes, todos com titulação mínima de Doutor. No mínimo um dos membros titulares e um dos suplentes devem ser estranhos ao programa e ao departamento.
 - 4.1. O orientador não poderá fazer parte da Comissão Julgadora, porém poderá estar presente no Exame de Qualificação.
 - 4.2. Preferencialmente, o coordenador e o vice-coordenador deverão atuar juntos no momento da indicação da Comissão Julgadora.
5. A sessão do Exame de Qualificação deve ser pública, com duração máxima de 2 horas.
 - 5.1. Atendendo solicitação prévia do aluno e do orientador, a Coordenadoria do Programa poderá autorizar que a sessão (ou parte da sessão) não seja pública.
 - 5.2. Será considerado aprovado o aluno que obtiver aprovação por unanimidade ou pela maioria da Comissão Julgadora .
6. Ao aluno reprovado é dada uma nova oportunidade para realizar outro exame desde que dentro do prazo estipulado pela Resolução CoPGr 5140, de 20/09/2004. O aluno reprovado na segunda oportunidade será desligado do programa.

São Paulo, 10 de agosto de 2009.

Profa. Dra. Bernadette D. G. M. Franco

Presidente da CPG/FCF/USP

ANEXO 2 – FICHA DO ALUNO

25/11/13

Ficha do Aluno

Janus - Sistema Administrativo da Pós-Graduação

Universidade de São Paulo
Faculdade de Ciências Farmacêuticas
Documento sem validade oficial
FICHA DO ALUNO

9132 - 7494411/2 - Isabela Saralva de Almeida

Email: isabelasaralva@usp.br
Data de Nascimento: 03/12/1985
Cédula de Identidade: RG - 2004010036869 - CE
Local de Nascimento: Estado do Ceará
Nacionalidade: Brasileira
Graduação: Nutricionista - Universidade Estadual do Ceará - Ceará - Brasil - 2010

Curso: Mestrado
Programa: Ciência dos Alimentos
Área: Nutrição Experimental
Data de Matrícula: 03/06/2011
Início da Contagem de Prazo: 03/06/2011
Data Limite para o Depósito: 03/12/2013
Orientador: Prof(a). Dr(a). Silvia Maria Franciscato Cozzolino - 03/06/2011 até o presente.
E-Mail: smfcozzo@usp.br
Proficiência em Línguas: Inglês, Aprovado em 03/06/2011
Data de Aprovação no Exame de Qualificação: Aprovado em 20/08/2012
Data do Depósito do Trabalho:
Título do Trabalho:
Data Máxima para Aprovação da Banca:
Data de Aprovação da Banca:
Data Máxima para Defesa:
Data da Defesa:
Resultado da Defesa:
Histórico de Ocorrências: Ingressou no Mestrado em 03/06/2011
Matrícula de Acompanhamento em 22/07/2013

Aluno matriculado nas normas vigentes a partir de 01/07/2009

Última ocorrência: Matrícula de Acompanhamento em 22/07/2013

Impresso em: 25/11/13 18:58:24

25/11/13

Ficha do Aluno

Janus - Sistema Administrativo da Pós-Graduação

Universidade de São Paulo
Faculdade de Ciências Farmacêuticas
Documento sem validade oficial
FICHA DO ALUNO

8132 - 7494411/2 - Isabela Saraiva de Almeida

Sigla	Nome da Disciplina	Início	Término	Carga Horária	Cred.	Freq.	Conc.	Exc.	Situação
HNT5724-4/7	Delimitação de Estudos Popacionais em Alimentação e Nutrição (Faculdade de Saúde Pública - Universidade de São Paulo)	01/08/2011	05/09/2011	60	0	0	-	N	Matrícula cancelada
HNT5732-8/2	Métodos para Avaliação do Consumo Alimentar de Populações (Faculdade de Saúde Pública - Universidade de São Paulo)	16/08/2011	27/09/2011	60	4	83	A	N	Concluída
FBA5728-3/3	Aprimoramento Didático	12/09/2011	09/10/2011	60	4	87,5	A	N	Concluída
HNT5759-1/2	Nutrigenômica no Contexto das Doenças Crônicas não Transmissíveis (Faculdade de Saúde Pública - Universidade de São Paulo)	04/10/2011	08/11/2011	60	4	87	A	N	Concluída
ICB5711-2/1	Redação de Trabalhos Científicos (Instituto de Ciências Biomédicas - Universidade de São Paulo)	31/10/2011	08/12/2011	45	3	100	A	N	Concluída
HNT5737-3/3	Ciência de Alimentos (Faculdade de Saúde Pública - Universidade de São Paulo)	29/02/2012	11/04/2012	60	0	0	-	N	Matrícula cancelada
HEP5800-3/1	Bioestatística (Faculdade de Saúde Pública - Universidade de São Paulo)	01/03/2012	10/05/2012	90	0	0	-	N	Pré-matrícula indeferida
FBA5899-2/2	BioDisponibilidade de Nutrientes e de Substâncias Bioativas em Alimentos e Dietas	05/03/2012	15/04/2012	90	6	90	A	N	Concluída
FBC5700-6/1	Aterosclerose: Fisiopatologia, Diagnóstico e Terapêutica	05/04/2012	03/05/2012	60	0	0	-	N	Matrícula cancelada
HNT5767-1/1	Transtornos Alimentares: Intersecções com Obesidade no Atendimento Nutricional (Faculdade de Saúde Pública - Universidade de São Paulo)	14/05/2012	18/06/2012	60	4	90	A	N	Concluída
HEP5800-3/5	Bioestatística (Faculdade de Saúde Pública - Universidade de São Paulo) (1)	05/03/2013	14/05/2013	90	6	94	A	S	Concluída

Créditos mínimos exigidos		Créditos obtidos
	Para exame de qualificação	Para depósito da dissertação
Disciplinas:	0	25
Estágios:		
Total:	0	25

Créditos Atribuídos à Dissertação: 71

Observações:

1) Disciplina(s) cursada(s) voluntariamente pelo(s) candidato(s) após ter cumprido as exigências regulamentares.

Conselho a partir de 02/01/1997:

A - Excelente, com direito a crédito; B - Bom, com direito a crédito; C - Regular, com direito a crédito; R - Reprovado; T - Transferência.

ANEXO 3 – AVAL DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

Plataforma Brasil - Ministério da Saúde

Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da USP - HCFMUSP

PROJETO DE PESQUISA

Título: ESTADO NUTRICIONAL RELATIVO AO ZINCO E SUA RELAÇÃO COM O ESTRESSE OXIDATIVO E COM O POLIMORFISMO ARG213GLY NO GENE DA SOD3 EM UMA POPULAÇÃO DE INDIVÍDUOS OBESOS

Pesquisador: Alfredo Halpern

Versão: 1

Instituição: Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da USP

CAAE: 00705512.6.0000.0068

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

Número do Parecer: 17260

Data da Relatoria: 02/05/2012

Apresentação do Projeto:

Estado nutricional relativo ao zinco e sua relação com o estresse oxidativo e com o polimorfismo Arg213Gly no gene da SOD3 em uma população de indivíduos obesos.

Objetivo da Pesquisa:

Avaliar o estado nutricional relativo ao zinco e sua relação com o estresse oxidativo e com o polimorfismo Arg213Gly no gene da SOD3 em uma população de indivíduos obesos.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Trata-se de um estudo caso controle, em que a amostra do estudo (100 pacientes) será constituída por indivíduos adultos do sexo feminino, sendo definidos como casos os indivíduos obesos que fazem acompanhamento clínico no Grupo de Obesidade e Síndrome Metabólica, do Serviço de Endocrinologia e Metabologia do Instituto Central do Hospital das Clínicas, da FMUSP (USP), e controles uma amostra aleatória de indivíduos eutróficos.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

O estudo vai avaliar o estado nutricional relativo ao zinco e sua relação com o estresse oxidativo e com o polimorfismo Arg213Gly no gene da SOD3 em uma população de indivíduos obesos, os resultados vão contribuir com o manejo deste grupo de pacientes.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

O TCLE se encontra sem pendências éticas

Recomendações:

Trabalho bem escrito e bem detalhado

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Sugerimos aprovação do mesmo por não apresentar pendências éticas

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

SAO PAULO, 02 de Maio de 2012

Assinado por:

Lutz Eugênio Garcez Leme

ANEXO 4 – CURRICULO LATTES

Isabela Saraiva de Almeida
Curriculum Vitae

Novembro/2013

Isabela Saraiva de Almeida

Curriculum Vitae

Dados pessoais

Nome Isabela Saraiva de Almeida
Nascimento 03/12/1985 - Fortaleza/CE - Brasil
CPF 017.300.763-51

Formação acadêmica/titulação

2011 Mestrado em Ciências dos Alimentos.
 Universidade de São Paulo, USP, São Paulo, Brasil
 Título: Influência do polimorfismo Arg213Gly no gene da SOD3 nos níveis de estresse oxidativo, no risco cardiovascular e no estado nutricional relativo ao zinco em indivíduos obesos., Ano de obtenção: 2013
 Orientador: Silvia Maria Franciscato Cozzolino
 Bolsista do(a): Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico

2005 - 2010 Graduação em Nutrição.
 Universidade Estadual do Ceará, UECE, Fortaleza, Brasil
 Título: O selênio e sua relação com a síndrome metabólica
 Orientador: Carla Soraya Costa Maia

Formação complementar

2012 - 2012 Curso de curta duração em Estatística aplicada à Nutrição.
 Sociedade Brasileira de Alimentação e Nutrição, SBAN, São Paulo, Brasil

2008 - 2008 Curso de curta duração em Sistema APPCC.
 Serviço Nacional de Aprendizagem Comercial - CE, SENAC/CE, Fortaleza, Brasil

2008 - 2008 Curso de curta duração em Elaboração do Manual de Boas Práticas.
 Serviço Nacional de Aprendizagem Comercial - CE, SENAC/CE, Fortaleza, Brasil

2006 - 2006 Curso de curta duração em III Curso de Contagem de Carboidratos.
 Instituto Elliot Joslin, IEJ, Brasil

2006 - 2006 Curso de curta duração em Boas práticas de manipulação de alimentos.
 Serviço Nacional de Aprendizagem Comercial - CE, SENAC/CE, Fortaleza, Brasil

2006 - 2006 Informática Básica - Windows.
 Serviço Nacional de Aprendizagem Comercial - CE, SENAC/CE, Fortaleza, Brasil

Mastering English Course.
 CCAA, CCAA, Brasil
 Ano de interrupção: 2006

2006 - 2006 Extensão universitária em Monitoria Microbiologia dos Alimentos.
 Universidade Estadual do Ceará, UECE, Fortaleza, Brasil
 Bolsista do(a): Fundação Cearense de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico

2005 - 2005 Curso de curta duração em Seminário de Nutrição e Programa Saúde da Família.
 Universidade Estadual do Ceará, UECE, Fortaleza, Brasil

1997 - 2001 Oral and Written Communication Course.
CCAA, CCAA, Brasil

Atuação profissional

1. Universidade de São Paulo - USP

Vínculo institucional

2011 - 2013 Vínculo: Outro (Bolsista de Mestrado) , Enquadramento funcional: Bolsista de Mestrado , Carga horária: 40, Regime: Dedicação exclusiva

2. Instituto Euvaldo Lodi - CE - IEL/CE

Vínculo institucional

2009 - 2009

Projetos

Projetos de pesquisa

2011 - Atual Avaliação do estado nutricional de mulheres obesas em relação ao zinco e sua associação com o estresse oxidativo e os polimorfismos Arg213Gln e +35A/C.

Descrição: Projeto de Mestrado que tem por objetivo avaliar o estado nutricional de mulheres obesas em relação ao zinco (Zn) e a associação com marcadores do estresse oxidativo e com polimorfismos em genes das enzimas antioxidantes SOD1 e SOD3

Situação: Em andamento Natureza: Projetos de pesquisa

Integrantes: Isabela Saraiva de Almeida (Responsável);

2009 - 2009 Desenvolvimento de picolés e sorvetes nutricionalmente completos para crianças

Descrição: A pesquisa teve como objetivo desenvolver picolés e sorvetes voltados para o público infantil com quantidades adequadas de carboidratos, lipídios, proteínas e fibras, assim como o desenvolvimento de produtos para fins específicos, como para intolerantes à lactose.

Situação: Concluído Natureza: Projetos de pesquisa

Alunos envolvidos: Graduação (1);

Integrantes: Isabela Saraiva de Almeida; Carla Soraya Costa Maia (Responsável)

Produção

Produção bibliográfica

Artigos completos publicados em periódicos

1. SILVA, A. R. V., DAMASCENO, M. M. C., MARINHO, N. B. P., ALMEIDA, L. S., ARAUJO, M. F. M., ALMEIDA, P. C., **ALMEIDA, I. S.**

Hábitos alimentares de adolescentes de escolas públicas de Fortaleza, CE, Brasil. Revista Brasileira de Enfermagem (Impresso). , v.62, p.18 - 24, 2009.

Capítulos de livros publicados

1. SILVA, G. B., **ALMEIDA, I. S.**, SANTOS, L. B., COZZOLINO, S. M. F.
BIOTINA In: BASES BIOQUÍMICAS E FISIOLÓGICAS DA NUTRIÇÃO NAS DIFERENTES FASES DA VIDA, NA SAÚDE E NA DOENÇA. 1 ed. BARUERI : MANOLE, 2013, v.1, p. 571-592.
2. SILVA, G. B., **ALMEIDA, I. S.**, SANTOS, L. B., COZZOLINO, S. M. F.
COLINA In: BASES BIOQUÍMICAS E FISIOLÓGICAS DA NUTRIÇÃO NAS DIFERENTES FASES DA VIDA, NA SAÚDE E NA DOENÇA. 1 ed. BARUERI : MANOLE, 2013, v.1, p. 558-570.
3. CALLOU, K. R. A., SILVA, G. B., **ALMEIDA, I. S.**, SANTOS, L. B., COZZOLINO, S. M. F.
ELEMENTOS-TRAÇO In: BASES BIOQUÍMICAS E FISIOLÓGICAS DA NUTRIÇÃO NAS DIFERENTES FASES DA VIDA, NA SAÚDE E NA DOENÇA. 1 ed. BARUERI : MANOLE, 2013, v.1, p. 354-390.

Trabalhos publicados em anais de eventos (resumo)

1. ALMEIDA, L. S., MAIA, C. S. C., PIRES, L. V., BARROSO, C. F., **ALMEIDA, I. S.**, COZZOLINO, S. M. F.
Atividade da enzima GPx como biomarcador da ingestão de selênio em uma população adulta In: V Congresso Brasileiro de Nutrição Integrada (CBNI), 2013, São Paulo.
Revista Brasileira de Medicina. São Paulo: Moreira Jr, editora LTDA, 2013. v.70. p.3 - 152
2. REIS, B. Z., SILVA, G. B., **ALMEIDA, I. S.**, COZZOLINO, S. M. F.
Arg213Gly Polymorphism in EC-SOD Gene and Its Relationship with Cardiovascular Disease In: 6th Congress of the International Society of Nutrigenetics / Nutrigenomics (ISNN), 2012, São Paulo.
Journal of Nutrigenetics and Nutrigenomics. Basel: Karger, 2012. v.5. p.171 - 302
3. SALES, K. M. O, SAMPAIO, H. A. C., Sabry, M. O. D., SAMPAIO, J. A., ARCANJO, J. M. A., OLIVEIRA, N. M., **ALMEIDA, I. S.**
Erradicação de helicobacter pylori através do uso de simbiótico: uma nova estratégia terapêutica e preventiva de câncer gástrico In: III Congresso Brasileiro de Nutrição e Câncer, International Conference of Nutritional Oncology e Ganepão 2008, 2008, São Paulo.
Revista Brasileira de Medicina. , 2008. v.65. p.121 - 121

Produção técnica

Demais produções técnicas

1. ROCHA, E. M. B., CABRAL, M. M., PINHO, L. M., MOREIRA, A. C. O., OLIVEIRA, K. P., MACHADO, S. G., MESQUITA, S. A., **ALMEIDA, I. S.**
Apostila de treinamento de merendeiras de creches comunitárias, 2007. (Desenvolvimento de material didático ou instrucional)