

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos
Área de Nutrição Experimental

**Efeito da Suplementação com Zinco na Resistência
à Insulina em Mulheres Obesas**

Dilina do Nascimento Marreiro

Tese para obtenção do grau de

DOUTOR

Orientadora:

Profa. Titular Silvia M. F. Cozzolino

**São Paulo
2002**

DEDALUS - Acervo - CQ



30100004599

Ficha Catalográfica

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

Marreiro, Dilina do Nascimento

M358ef Efeito da suplementação com zinco na resistência à
insulina em mulheres obesas / Dilina do Nascimento
Marreiro. -- São Paulo, 2002.
109p.

Tese (doutorado) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas
da Universidade de São Paulo. Departamento de Alimentos
e Nutrição Experimental.

Orientador : Cozzolino, Silvia Maria Franciscato

I. Zinco : Valor nutritivo : Ciências dos alimentos 2.
Obesidade : Fisiologia : Doenças metabólicas I. T. II.
Cozzolino, Silvia Maria Franciscato. orientador.

641.17 CDD

Dilina do Nascimento Marreiro

Efeito da Suplementação com Zinco na Resistência
à Insulina em Mulheres Obesas

Comissão Julgadora
da
Tese para obtenção do grau de Doutor

Profa. Titular Silvia M. F. Cozzolino
orientadora/presidente

Prof. Dr. Antônio Carlos Perário
1º Examinador

Prof. Dr. Bruno Gelonese Neto
2º Examinador

Profa. Dra. Tania Rome da Rocha Martins
3º Examinador

Prof. Dr. Fernando Salvador Moreno
4º Examinador

São Paulo, 28 de janeiro de 2002

*A Deus, pela luz intensificada
nos momentos mais difíceis...*

*Esta tese contou com a co-orientação do
Prof. Assoc. Alfredo Halpern
do Hospital das Clínicas da
Faculdade de Medicina
de São Paulo - USP.*

*As pacientes que participaram deste estudo,
pela colaboração e envolvimento
espontâneos nas diversas atividades
deste trabalho .*

*Aos meus queridos pais, que apesar
da distância, sempre me incentivaram
e estiveram presentes com
carinho, apoio, dedicação
e compreensão.*

*Aos meus irmãos, pelo incentivo,
apoio e entusiasmo com
meu apego profissional.*

*Ao Luiz Claudio Demes, pelo grande
entusiasmo com meu desenvolvimento
profissional, e acima de tudo,
pelo afeto e companheirismo...*

AGRADECIMENTOS

Agradeço em especial, à orientadora e amiga Professora Silvia Franciscato Cozzolino, por seu profissionalismo, senso crítico, apoio e pelas orientações científicas e humanas. Obrigada pela AMIZADE e por seu estímulo contagiante;

Ao Professor Alfredo Halpern pela confiança nos propósitos deste estudo e viabilização da realização deste trabalho junto ao Hospital das Clínicas da Universidade de São Paulo. Obrigada pelo grande apoio, ensinamentos e por seu afeto sempre presente;

Ao Professor Antonio Carlos Lerário, do Hospital das Clínicas da FM/USP pela acolhida e pelas grandes contribuições para realização deste estudo, sobretudo pela sua disponibilidade ilimitada;

Aos Professores Marcos Tambascia do Laboratório de Endocrinologia do Hospital das Clínicas da UNICAMP, pelas orientações relevantes e seguras, pela grande colaboração para a realização deste trabalho;

Ao Professor Bruno Geloneze Neto, do Laboratório de Endocrinologia do Hospital das Clínicas da UNICAMP, pelas grandes contribuições e entusiasmo por este estudo;

Ao Professor Fernando Salvador Moreno, por seu profissionalismo, pela oportunidade de trocas de idéias e por sua maneira sempre carinhosa;

Ao Idblan Albuquerque. Obrigada pelo grande entusiasmo por minhas conquistas profissionais.....

Às secretárias do Departamento de Alimentos e Nutrição Experimental, Ângela Maria Lima de Oliveira, Isabel Cristina Bossi Alves, Mônica Dealis Perussi, Tânia Cacheiro, pela eficiência e grande carinho;

Aos docentes do Departamento de Alimentos e Nutrição Experimental da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da USP;

Aos secretários do Curso de Pós-Graduação, Benedita C. S. Oliveira, Jorge Alves de Lima e Elaine Midori Ychico, pela enorme paciência, e principalmente, pela maneira amigável e atenciosa;

À bioquímica Sandra Maria Grandin Pereira, do Laboratório de Endocrinologia do Hospital das Clínicas da UNICAMP pela colaboração nas análises de hormônios;

À equipe da sala de teste do Ambulatório de Endocrinologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, pela grande colaboração na coleta de material biológico;

Às funcionárias Joana de Almeida Santos e Maria de Lourdes da Silva Pedroza do Departamento de Nutrição Experimental/FBA/USP, pela paciência e auxílios prestados;

Ao José João Name da Albion Laboratories, pelo grande apoio;

Ao técnico e amigo Luís Cláudio Silva, pelo carinho, entusiasmo com o trabalho, e sobretudo, pela sua disponibilidade ilimitada!!!;

Ao estatístico José Nelson Vancea, pelo trabalho estatístico;

Ao grupo de obesidade do Hospital das Clínicas da FM/USP (Cíntia Cercato, Luciana Batalha, Márcio Mancini, Sandra Vilarés, Alfredo Halpern, Alessandra, Mírian, Socorro e Patrícia) pelo aprendizado e pelo convívio agradável;

Ao bibliotecário Angelo Antonio Alves Corrêa da Cruz, da Biblioteca do Instituto de Químicas e Faculdade de Ciências Farmacêuticas/USP, pela gentileza, e prestatividade;

Aos Amigos do Laboratório de Minerais, Adriana Gisele H. da Silva, Elizabeth Chicourel, Marisilda Ribeiro, Denise Mafra, Vanessa Coutinho, Vanuska Silva, Irland Barroncas, e Adriana Lima, pelas trocas de conhecimentos;

À amiga Fabiana Poltronieri, pela grande amizade e pelo eterno enriquecimento adquirido com o seu convívio;

À amiga e incentivadora Nadir do Nascimento Nogueira, pelo constante estímulo;

À minha amiguinha Flávia Franciscato Cozzolino, pela amizade, pelas brincadeiras, e principalmente pelo aconchego familiar;

À amiga Luciana Batalha, pela amizade, carinho e respeito ao meu apego profissional;

Ao Gilberto Simeone Henriques, grande companheiro de trabalho!!!. Obrigada pela amizade e pelas trocas de idéias;

À Cíntia Cercato pelo apoio, entusiasmo e principalmente por sua acolhida. Obrigada pela grande força na coleta de dados!.

À Adriana Gisele Hertzog da Silva, por sua maneira atenciosa, amiga e meiga;

Às amigas Fernandinha Coelho e Simone Sady, pelo carinho e apoio;

Ao querido primo Zeca e família, pela acolhida e por toda atenção e carinho dispensados.....Minha eterna gratidão!

As amigos Elson Rodrigues Pardino e Gervasia Mota da Silva, pelo grande apoio!!;

Ao Alexsandro Macedo Silva, pelo seu carinho e sua serenidade que me traz calma....;

Ao amigo Raimundo Vieira Toranga, pela amizade e sobretudo pelo grande apoio!.....

À Coordenação do Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior-CAPES pelo suporte financeiro;

Aos AMIGOS da pós-graduação, pelas trocas de conhecimentos e experiências, e sobretudo pelo convívio agradável;

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

SUMÁRIO

	Pág.
1.0 INTRODUÇÃO	01
2.0. REVISÃO DA LITERATURA	03
2.1. Resistência à insulina.....	03
2.1.1. Etiologia da resistência à insulina	04
2.1.1.1. Receptor da insulina.....	05
2.1.1.2. Papel do tecido adiposo.....	07
2.1.1.3. Alterações hormonais.....	09
2.1.1.4. Mecanismos fisiológicos relativos a adiposidade visceral e a resistência à insulina.....	11
2.2. Zinco.....	14
2.3. Estudos sobre zinco e insulina.....	19
2.4. Estudos sobre zinco e intolerância à glicose.....	23
2.5. Leptina e glicocorcóides.....	24
2.6. Métodos de investigação clínica da resistência à insulina.....	27
3.0. OBJETIVOS.....	30
3.1. Geral.....	30
3.2. Específicos	30
4.0. CASUÍSTICA E MÉTODOS.....	31
4.1. Protocolo Experimental.....	31
4.2. Avaliação da Composição Corporal.....	33
4.2.1. Parâmetros Antropométricos.....	33

4.2.1.1. Índice de Massa Corpórea.....	34
4.2.1.1.2. Dobras cutâneas.....	35
4.2.1.1.3 Circunferências.....	35
4.2.2. Impedância Bioelétrica.....	36
4.3. Parâmetros Dietéticos	37
4.3.1. Avaliação do Consumo Alimentar.....	37
4.4. Materia e Procedimento	37
4.4.1. Coleta de Material Biológico e Separação dos Componentes do Sangue.....	37
4.4.2. Obtenção de Urina de 24horas.....	38
4.4.3. Controle de contaminação.....	39
4.4.4. Reagentes.....	39
4.4.1. Avaliação do Consumo Alimentar.....	36
4.4.5 Controle da Metodologia de Análise de Zinco.....	39
4.5. Medidas Bioquímicas.....	40
4.5.1. Parâmetros Bioquímicos de Avaliação do Zinco.....	40
4.5.1.1. Determinação do Zinco no Plasma.....	40
4.5.1.2. Determinação do Zinco no Eritrócito.....	41
4.5.1.3. Determinação de Zinco na Urina.....	42
4.5.2. Determinação de Creatinina Urinária.....	42
4.5.3. Análise de Colesterol total, Triacilglicerol, VLDL-C, HDL-C e LDL-C.....	43
4.5.4. Caracterização da Resistência à Insulina.....	44
4.5.4.1. Índice HOMA.....	44

4.5.4.1.1.Determinação da Insulina.....	44
4.5.4.1.2. Determinação da Glicose.....	44
4.5.5. Teste Oral de Tolerância à Glicose.....	45
4.5.6. Determinação da Leptina.....	45
4.5.7. Avaliação Estatística.....	46
5.0. Resultados.....	49
5.1. Caracterização dos Participantes do Estudo.....	49
5.2. Estado Nutricional dos Participantes do Estudo.....	50
5.2.1. Antropometria e Impedância Bioelétrica.....	51
5.3. Parâmetros Bioquímicos Gerais.....	51
5.3.1. Perfil Lipídico do Grupo Suplementado e do Grupo Placebo nas Fases de Pré e Pós Intervenção.....	51
5.4. Avaliação do Consumo Alimentar.....	52
5.5. Parâmetros Bioquímicos de Avaliação do Zinco	53
5.5.1. Zinco Plasmático	53
5.5.2. Determinação de Zinco no Eritrócito.....	55
5.5.3. Concentração de Zinco na Urina.....	57
5.6. Determinação de Insulina, Glicose e Leptina.....	60
5.7. Índice HOMA.....	63
6.0. DISCUSSÃO.....	64
6.1. Avaliação da Composição Corporal.....	64
6.2. Análise e Adequação das Dietas.....	67
6.3. Avaliação de Zinco no Plasma e Eritrócito	73
6.4. Avaliação da Insulina e Leptina Sérica.....	76

6.5. Avaliação de Zinco na Urina.....	79
6.6. Redução da resistência à insulina.....	80
7.0. CONCLUSÕES.....	82
8.0. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	83

ANEXOS

LISTA DE ABREVIATURAS

CT - colesterol total

HDL - lipoproteína de alta densidade (high density lipoprotein)

HDL - C - colesterol de lipoproteína de alta densidade

IMC - índice de massa corpórea

LDL - lipoproteína de baixa densidade (low density lipoprotein)

LDL - C - colesterol de lipoproteína de baixa densidade

VLDL - lipoproteína de muito baixa densidade (very low density lipoprotein)

VLDL - C - colesterol de lipoproteína de muito baixa densidade

RDA - recommended dietary allowances

TG - triacilglicerol

WHO - world health organization

TNF - fator de necrose tumoral

PPAR - receptor ativado por proliferadores do peroxisoma

CRIP - proteína intestinal rica em cisteína

HOMA – homeostasis model assessment

RESUMO

A literatura tem demonstrado que a ação da insulina pode ser melhorada por um grande número de fatores dentre eles, o zinco. Para verificar o efeito da suplementação com zinco na resistência à insulina na obesidade, foi realizado um estudo clínico de intervenção, duplo cego, controlado com placebo. Mulheres obesas tolerantes à glicose (n=56), com idade entre 25 e 45 anos, foram selecionadas aleatoriamente para o tratamento com zinco (30mg/dia por 4 semanas). Ambos os grupos eram semelhantes ao início em relação à idade, IMC ($36,2 \pm 2,3 \text{ kg}/(\text{m}^2)$), parâmetros lipídicos, composição corporal, ingestão calórica, concentração de insulina e leptina, resistência à insulina, concentração de zinco na dieta, plasma, urina e no eritrócito. As pacientes foram orientadas para não modificarem seus hábitos alimentares. As determinações da insulina e leptina foram realizadas por radioimunoensaio (LINCO Res). A resistência à insulina foi verificada pelo modelo HOMA. As determinações de zinco no plasma, no eritrócito e excreção urinária de zinco/24horas por espectrofotometria de absorção atômica. O IMC, composição corporal, perfil lipídico, glicose de jejum, concentração de zinco no plasma e eritrócito não mudaram em ambos os grupos, embora após 4 semanas a concentração de zinco na urina aumentou de $385,9 \pm 259,3$ para $470,2 \pm 241,2 \mu\text{gZn}/24\text{horas}$ no grupo suplementado ($p < 0,05$). A leptina e a insulina não alteraram no grupo placebo. No grupo suplementado com zinco, também não houve alteração na leptina ($23,6 \pm 12,3 \mu\text{g}/\text{L}$), entretanto houve redução significativa da insulina de $28,8 \pm 14,1$ para $21,2 \pm 8,1 \mu\text{U}/\text{mL}$ ($p < 0,05$). O HOMA também reduziu de $5,8 \pm 2,6$ para $4,3 \pm 1,7$ ($p < 0,05$) no grupo suplementado com zinco e não mudou no grupo placebo. Assim, pode-se concluir que num período de curta duração a suplementação melhorou a sensibilidade à insulina nas mulheres obesas. Portanto, embora os mecanismos para este efeito ainda não estejam totalmente elucidados, recomenda-se mais estudos para verificar o possível efeito da terapia com zinco em estados de resistência à insulina, tais como no diabético.

ABSTRACT

Insulin action could be enhanced by a large number of factors, such as zinc. To assess the effect of zinc supplementation on insulin resistance (IR) in obesity, a prospective double-blind randomized clinical interventional study controlled with placebo was carried out. 56 normal glucose tolerant obese women (age: 25–45 years, BMI = $36,2 \pm 2,3$ kg/m²) were randomized to treatment with zinc 30 mg daily for 4 weeks. Both groups at baseline were not different in age, BMI, lipid parameters, body composition, caloric intake, leptin and insulin concentration, insulin resistance, zinc concentration on diet, plasma, urine and erythrocytes. A registered dietitian provided all patients individual counseling in order to maintain their caloric and zinc intake during this period. Insulin and leptin were measured by radioimmunoassay (Linco Res.) and RI were assessed by homeostasis model assessment (HOMA). BMI, body composition, lipid profile, fasting glucose, zinc concentration on plasma and erythrocyte have not changed in both groups although at 4 weeks urine zinc levels rose from $385,9 \pm 259,3$ to $470,2 \pm 241,2$ μg/24hs in the zinc supplemented group ($p < 0,05$). Leptin and insulin did not changed in placebo group. In the zinc group leptin were $23,6 \pm 12,3$ μg/L and did not changed also, but insulin reduced from $28,8 \pm 14,1$ to $21,2 \pm 8,1$ μU/mL ($p < 0,05$). Finally, HOMA reduced from $5,8 \pm 2,6$ to $4,3 \pm 1,7$ ($p < 0,05$) in the zinc group and not changed in the placebo group. A short time of zinc supplementation improved insulin sensitivity in obese insulin resistance women without zinc deficiency. Although the mechanism concerning the effect of zinc supplementation is not completely understood further studies are recommended to address the possible role of zinc therapy in insulin resistance states such as diabetic.

1.0 - Introdução

1.0 INTRODUÇÃO

A obesidade é uma doença crônica caracterizada pelo excesso de gordura corporal resultante de um desequilíbrio entre a ingestão e o gasto energético. Nas últimas décadas, estudos têm revelado uma alta prevalência de sobrepeso e obesidade no mundo (WHO, 1998).

A morbidade da obesidade está diretamente relacionada à concomitância de hipertensão arterial, dislipidemias, doença cardiovascular aterosclerótica e *diabetes mellitus* tipo 2 (BRAY & TARTAGLIA, 2000; HOTAMISLIGIL, 2000; KAHN *et al.*, 2001). A associação da obesidade com estas alterações patológicas foi designada como "Síndrome X" por REAVEN, (1988), e de comum, foi detectada a presença de resistência insulínica.

A resistência à insulina reflete-se principalmente no metabolismo de glicose. Embora uma menor capacidade de inibir o efluxo hepático de glicose possa estar presente, a resistência caracteriza-se pela diminuição da capacidade das células do organismo transportarem e utilizarem glicose estimuladas pela insulina. Nesse sentido, o nível de glicose circulante no estado de equilíbrio dinâmico (*steady state*) e as concentrações de insulina, são os parâmetros que podem ser considerados para quantificar a resistência insulínica (WAJCHENBERG *et al.*, 1999).

Nos anos recentes, percebe-se um crescente interesse no que diz respeito às alterações metabólicas presentes em indivíduos obesos. Investigações têm procurado elucidar os mecanismos envolvidos no processo de desenvolvimento da resistência à insulina. Estas vão desde as alterações no número e na afinidade de receptores de insulina, até as bases moleculares intracelulares envolvidas no metabolismo da glicose (PI-SUNYER, 1994; FRAYN, 1996; DRESNER *et al.*, 1999; KAHN & FLIER, 2000; YUAN *et al.*, 2001).

Em pesquisas conduzidas tanto em animais quanto em humanos, tem-se evidenciado que o metabolismo de minerais apresenta-se alterado na presença da obesidade. O zinco em particular, tem sido um elemento de

interesse para muitos pesquisadores. Este mineral possui uma relação com os sinais de membrana na regulação hormonal, que parece melhorar a interação entre hormônios e seus receptores, como observado no hormônio do crescimento, prolactina e insulina (CUNNINGHAM *et al.*, 1990; CHEN *et al.*, 1997).

Muitos estudos têm demonstrado que as concentrações de zinco no plasma, eritrócitos e no soro de indivíduos obesos estão diminuídas (MARTINO *et al.*, 1993; PERRONE *et al.*, 1998; MARREIRO, 1999). Associado a este fato, tem sido evidenciada a participação deste mineral estimulando a atividade do receptor de insulina tirosina quinase (COULSTON & DADONA, 1980) que posteriormente, por meio do estímulo pós-receptor, parece aumentar a translocação dos transportadores de glicose dos seus sítios intracelulares para a membrana plasmática (EZAKI, 1989).

Embora vários trabalhos na literatura já tenham demonstrado *in vitro* e *in vivo*, a participação do zinco na atividade da insulina, dados sobre a ação deste mineral sobre a resistência à insulina, principalmente em se tratando de obesidade, ainda são escassos (LEVINE *et al.*, 1983).

Portanto, este trabalho teve como objetivo avaliar o efeito da suplementação com zinco na resistência à insulina em mulheres obesas.

2.0-Revisão da literatura

2.0 REVISÃO DA LITERATURA

Definição de Obesidade

De acordo com a Organização Mundial da Saúde, a obesidade é uma condição caracterizada pelo excesso de gordura corporal resultante de um desequilíbrio entre a ingestão calórica e o gasto energético. Está associada ao aumento da prevalência de doenças crônicas não transmissíveis (WHO, 1998).

2.1. Resistência à insulina

O termo resistência à insulina está relacionado às ações da insulina sobre a homeostase da glicose e é definido como a resposta biológica subnormal a uma determinada concentração de insulina. Em obesos e em não obesos, a presença de resistência à insulina é acompanhada de alterações metabólicas e hemodinâmicas (REAVEN, 1988).

A homeostase da glicose, no jejum, depende do balanço entre a sua produção pelo fígado e a utilização nos tecidos insulino-dependentes (muscular, adiposo e hepático) e insulino-independentes (cérebro e rins). Este balanço é realizado por meio da regulação hormonal. Portanto, em indivíduos normais, um aumento na glicose plasmática é acompanhado por elevação na secreção de insulina pelas células β pancreáticas. Este aumento de insulina circulante estimula o transporte, metabolismo e estoque de glicose pelo músculo e tecido adiposo (HOTAMISLIGIL, 2000).

Em adição aos efeitos iniciais na homeostase da glicose, a insulina promove outros eventos na célula, dentre eles: captação de aminoácidos em todas as células, lipogênese, por meio da diferenciação de pré-adipócito em adipócito, de seu efeito anti-lipólise e do armazenamento de triacilglicerois, síntese de glicogênio no músculo e fígado, síntese protéica e expressão gênica. A insulina também aumenta a captação de ácidos graxos derivados

das lipoproteínas circulantes, por estimular a atividade da lipase de lipoproteína no tecido adiposo, contribuindo para a redução da produção de glicose hepática (EPSTEIN, 1999; KAHN & FLIER, 2000).

2.1.1. Etiologia da resistência à insulina

A resistência à insulina é uma característica comum da obesidade. Muitos estudos com o objetivo de esclarecer os mecanismos envolvidos nesta relação, têm concluído que as alterações na sensibilidade à insulina associadas à obesidade, são o resultado de anormalidades pré e pós receptor. Entretanto, as bases bioquímicas envolvidas nestas anormalidades não estão ainda completamente definidas (GRUNDY, 1998; KAHN *et al.*, 2001).

Os primeiros estudos indicaram que a resistência à insulina na obesidade, era atribuída à regulação quantitativa dos transportadores de glicose sensíveis à insulina e dos seus receptores. Entretanto, as pesquisas realizadas recentemente têm contribuído para o grande avanço no entendimento da via molecular da ação da insulina, com a observação da atividade catalítica intrínseca do receptor deste hormônio, bem como dos eventos sinalizadores. Os resultados destes estudos demonstraram que animais obesos e indivíduos com *diabetes mellitus* tipo 2, apresentavam alterações pós-receptor intracelular no metabolismo da glicose, sendo consideradas como principal fator responsável pela resistência à insulina (PI-SUNYER, 1994; HOTAMISLIGIL, 2000; KAHN & FLIER, 2000).

2.1.1.1. Receptor de insulina

O receptor de insulina é uma proteína que compreende duas subunidades α extracelulares, que contém um sítio de ligação da insulina e duas subunidades β intracelulares, estas últimas ligadas à membrana que fazem a transdução do sinal da insulina à célula (SCHWARTZ *et al.*, 2000).

A ação da insulina inicia-se a partir da sua ligação as subunidade α do receptor específico na membrana, estimulando a subunidade β que se autofosforila e implementa a capacidade tirosina quinase. A subunidade β é capaz de autofosforila-se e de fosforilar outras proteínas ou substratos sinalizadores citoplasmáticos intracelulares, dentre eles o substrato 1 do receptor de insulina (IRS-1) e o substrato 2 do receptor de insulina (IRS-2) (ROSEN,1989; SCHWARTZ *et al.*, 2000; KAHN & FLIER, 2000; YOUNGREN *et al.*, 2001).

Após a fosforilação do substrato 1 do receptor de insulina (IRS-1), este pode se associar à fosfatidil-inositol -3 -quinase (PI3-quinase) ativando-a. Esta ativação é necessária para a estimulação do transporte de glicose pela insulina (WHITE, 1998; VIRKAMAKI *et al.*, 1999), e é suficiente para induzir pelo menos parcialmente a translocação do GLUT4 para a membrana plasmática (FREVERT & KAHN, 1997; EPSTEIN, 1999). Após a fosforilação da PI3-quinase, esta proteína ativa outros substratos citoplasmáticos como as serinas quinases, proteína kinase B (AKT) e a proteína kinase C (PCK), que uma vez fosforilados, também participam das vias de transmissão do sinal de insulina durante o transporte de glicose.

A resistência à insulina na obesidade é manifestada pela redução do transporte e metabolismo da glicose estimulado pela insulina no adipócito e músculo esquelético, bem como pelo aumento da liberação da glicose hepática. Estas alterações funcionais podem resultar, em parte, de alterações nas vias de transmissão do sinal da insulina. De acordo com KAHN & FLIER, (2000), tanto no músculo quanto no tecido adiposo, a ligação da insulina ao seu receptor na membrana, bem como a fosforilação e

a atividade quinase deste receptor estão reduzidos em indivíduos com resistência à insulina.

Nos diversos estágios de resistência à insulina, a expressão do GLUT4 é regulada diferentemente em tecidos como o músculo e o tecido adiposo. Nos adipócitos de indivíduos obesos, a concentração de GLUT4 encontra-se reduzida, e no músculo esquelético esta proteína está normal (KAHN, 1992; ABEL *et al.*, 1996). Considerando-se que o músculo é o principal local para utilização de glicose estimulada pela insulina, as alterações na sensibilidade à insulina sistêmica não seriam explicadas pela redução da produção do GLUT4. Portanto, a redução na captação de glicose no músculo esquelético em indivíduos obesos e em diabéticos é atribuída à redução na translocação do GLUT4 das vesículas intracelulares à membrana da célula (EPSTEIN, 1999; KAHN & FLIER, 2000).

Vários estudos têm demonstrado que as alterações verificadas nas vias de transmissão do sinal de insulina ocorrem em tecidos específicos. Nos estudos de GOODYEAR *et al.* (1995) e KIM *et al.* (1999), foi demonstrada uma redução da expressão do IRS-1 no músculo esquelético de indivíduos obesos com resistência à insulina, resultando em uma diminuição da atividade da PI3-quinase e conseqüentemente na translocação intracelular do GLUT4.

Segundo PI-SUNYER (1994), a fosforilação da tirosina poderia encontrar-se alterada, o que levaria a mudanças nos sinais dentro da célula. Ainda, segundo este autor, a alteração pós-receptor, seria devido à uma anormalidade no sistema de transporte da glicose, dentro das células afetadas. De acordo com GARVEY (1992), a concentração das proteínas transportadoras de glicose encontram-se normais nas células musculares esqueléticas de indivíduos que apresentam resistência à insulina. Deste modo, o defeito estaria na atividade funcional ou na translocação destes transportadores mediada pela insulina.

2.1.1.2. Papel do tecido adiposo

Alguns estudos têm contribuído para um melhor entendimento dos mecanismos moleculares envolvidos na resistência à insulina. Essas investigações resultaram na identificação de algumas substâncias secretadas no tecido adiposo, que exercem papel importante para manifestação desta síndrome. O fator de necrose tumoral (TNF- α) e os ácidos graxos livres, induzem a resistência à insulina em tecidos como o músculo e o fígado, além do tecido adiposo (FLIER, 2001). O TNF - α inibe a fosforilação do substrato 1 do receptor de insulina (IRS -1) (FEINSTEIN *et al.*, 1993; KRODER *et al.*, 1996; PERALDI & SPIEGELMAN, 1998; HOTAMISLIGIL, 1999) e também altera a atividade deste receptor (HOTAMISLIGIL *et al.*, 1996).

Recentemente outros fatores moleculares secretados no tecido adiposo, que estão envolvidos na inibição da função e/ou na sinalização do receptor de insulina têm sido caracterizados, dentre eles, os ácidos graxos livres, a lipase de lipoproteína, a leptina, adiponectina e a interleucina-6 (TRAYHURN & BEATTIE, 2001).

Em um estudo recente, STEPPAN *et al.* (2001) identificaram outro hormônio, a resistina, que atua aumentando a resistência à insulina, provavelmente por diminuir a habilidade da insulina em promover a captação da glicose pelos adipócitos. Por outro lado, as tiazolidinedionas, drogas que atuam aumentando o metabolismo da glicose, possuem efeito inibidor sobre a produção de insulina (FLIER, 2001; TRAYHURN & BEATTIE, 2001) (Figura 1).

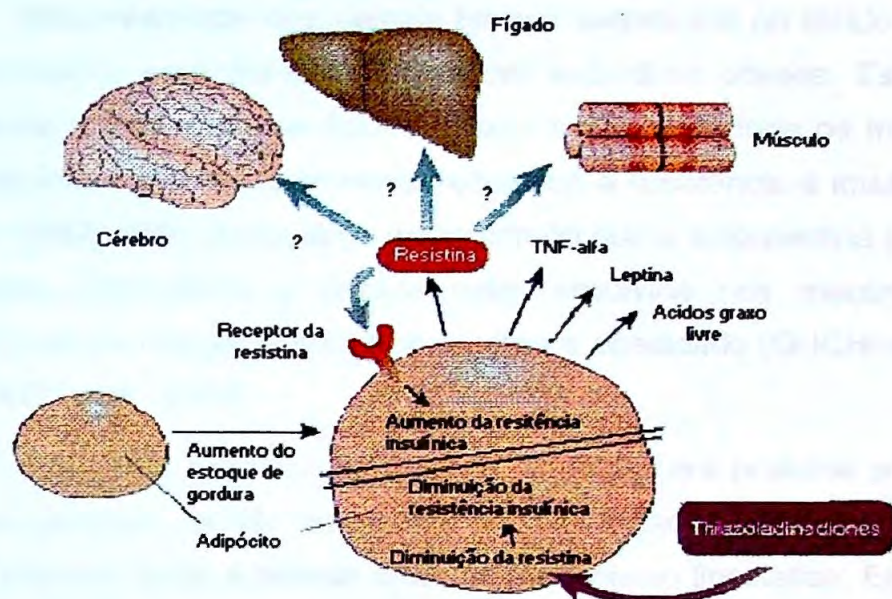


Figura 1. Fatores do tecido adiposo que causam redução na sensibilidade à insulina em alguns tecidos (músculo e fígado). Efeito antagônico entre a resistina e as tiazolidinedionas.

Fonte: Adaptada de FLIER, (2001)

As tiazolidinedionas reduzem a resistência à insulina, por estimular o Receptor Ativado por Proliferadores do Peroxisoma (PPAR gamma), fator de transcrição de receptores de hormônios nucleares, que atuam induzindo a diferenciação dos pré-adipócitos em adipócitos e promovendo o metabolismo da glicose (ROSENBAUM & LEIBEL, 1998; FLIER, 2001). De acordo com KAHN & FLIER, (2000) os prováveis mecanismos para explicar a ação das tiazolidinedionas sobre a redução da resistência à insulina, seria por meio de seu efeito direto sobre o PPAR gamma ou da redução da liberação dos ácidos graxos livres, e da sinalização do TNF α (EPSTEIN, 1999; KAHN & FLIER, 2000).

Diferentemente dos demais fatores secretados no tecido adiposo, a adiponectina, encontra-se reduzida em indivíduos obesos. Esta proteína aumenta a oxidação dos ácidos graxos livres, reduzindo os triacilgliceróis dos tecidos e conseqüentemente reduzindo a resistência à insulina (ARITA *et al.*, 1999). Além disso, já foi demonstrado que a adiponectina pode inibir a resposta inflamatória e parece estar envolvida nos mecanismos que participam da relação entre aterosclerose e obesidade (OUCHI *et al.*, 1999; YOKATA *et al.*, 2000).

A leptina, produto do gene *ob*, é uma outra proteína produzida no tecido adiposo, sendo secretada na circulação e transportada à área hipotalâmica, onde supõe-se atuar no mecanismo lipostático. Este peptídeo também atua aumentando a sensibilidade à insulina (KAHN & FLIER, 2000).

2.1.1.3. Alterações hormonais

A resistência à insulina é caracterizada por um aumento da concentração da insulina, do cortisol e dos andrógenos na mulher, associada a uma reduzida concentração do hormônio do crescimento e estrógenos. O cortisol na presença da insulina favorece o aumento dos depósitos de gordura na região abdominal. Por outro lado, os hormônios que atuam estimulando a mobilização de gordura, como por exemplo o hormônio do crescimento, encontram-se deficientes. Dessa forma, estas alterações hormonais promovem a centralização da gordura do corpo nos depósitos viscerais (BJÖRNTORP, 1998) (**Figura 2**).

Neste contexto, é oportuno destacar algumas características específicas da localização do tecido adiposo. A gordura localizada na região intraabdominal é altamente lipolítica, o que favorece a liberação de ácidos graxos livres, que alteram a utilização de glicose em alguns tecidos, especialmente no músculo. Deste modo, este tipo de distribuição de gordura está associado com a hiperinsulinemia e a resistência à insulina (KOPELMAN, 1997).

Associado a isso, a densidade do receptor de insulina parece ser menor nos depósitos de gordura visceral em comparação com outros depósitos, o que já é explicado pelo reduzido efeito da insulina nestes tecidos. Isto é compensado pelo aumento da concentração e secreção deste hormônio, característica da resistência insulínica (BJÖRNTORP, 1998).

Outra característica importante da gordura visceral em humanos, é a presença do receptor β_3 – adrenérgico (LÖNNQVIST *et al.*, 1993), podendo ser este o mecanismo que explicaria a alta sensibilidade lipolítica deste tecido.

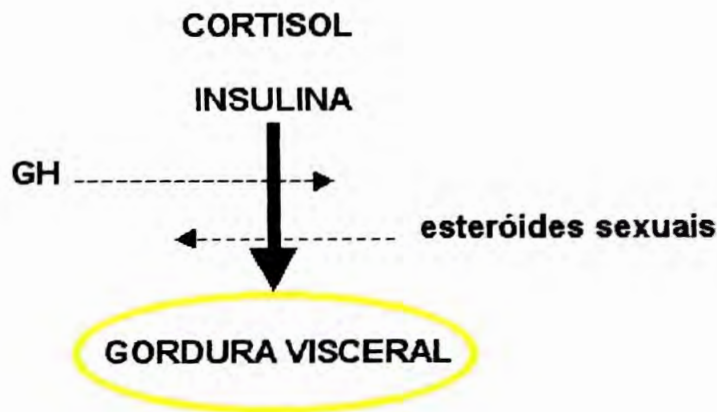


Figura 2. Elevada secreção do cortisol e da insulina em combinação com as baixas concentrações dos hormônio do crescimento e esteróides, promovendo o acúmulo de gordura visceral.

Fonte: Adaptada de BJÖRNTORP (1998)

Além do aumento dos depósitos de gordura nos tecidos viscerais, as alterações hormonais observadas na resistência à insulina, também favorecem o aumento da liberação dos ácidos graxos livres, potente indutor da resistência insulínica (RANDLE *et al.*, 1963). O cortisol exerce este efeito, tanto por aumentar a expressão da lipase de lipoproteína quanto por inibir a reesterificação dos ácidos graxos, promovendo a sua liberação do tecido adiposo. Dessa forma, as alterações hormonais participam da etiologia da

resistência à insulina, tanto diretamente, por meio do acúmulo de gordura visceral, quanto indiretamente por induzir a mobilização dos ácidos graxos (BJÖRNTORP, 1996) (Figura 3).



Figura 3. Elevada secreção do cortisol e dos androgénos na mulher em combinação com baixa concentração dos hormônios esteróides e elevada concentração de ácidos graxos liberados de depósitos de gordura visceral, induz a resistência à insulina.

Fonte: Adaptada de BJÖRNTORP (1998)

2.1.1.4. Mecanismos fisiológicos relativos a adiposidade visceral e a resistência à insulina

Desde o final da década de 40 com o estudo de VAGUE *et al.* (1947), outros pesquisadores também têm concluído que a forma mais agressiva da obesidade é aquela dos depósitos de gordura visceral, que parece contribuir mais para a resistência à insulina do que os depósitos de gordura subcutâneos.

Nesse sentido, os mecanismos mais esclarecidos até o momento, dizem respeito a contribuição da adiposidade central para a manifestação da resistência à insulina hepática. O aumento do fluxo dos ácidos graxos livres liberados para o fígado, bem como o aumento da produção de glicose no

fígado, são os dois fatores de grande interesse para explicar porque os ácidos graxos liberados da gordura visceral podem causar resistência à insulina no fígado (BERGMAN *et al.*, 2001).

Recentemente BERGMAN *et al.* (2001) investigando os mecanismos para o aumento do fluxo de ácidos graxos livres para o fígado na presença da adiposidade central, sugeriram como principais fatores, o aumento do tecido adiposo visceral, que por si só é resistente à insulina, bem como a regulação da liberação dos ácidos graxos dos triacilgliceróis pelo sistema nervoso central.

Por outro lado, ainda não são conhecidos os mecanismos que relacionam o aumento da liberação dos ácidos graxos livres dos depósitos viscerais e a resistência à insulina periférica. A resistência à insulina nos depósitos viscerais, aumenta o fluxo de ácidos graxos plasmáticos ao fígado, o que geraria um sinal secundário que interferiria com a função metabólica do músculo. Segundo BERGMAN *et al.* (2001) o "empacotamento" dos ácidos graxos livres como triacilgliceróis pelo fígado, resultando em um aumento da liberação e depósitos dos triacilgliceróis no tecido muscular, seria um dos possíveis mecanismos para a resistência à insulina periférica.

Em 1997, KOYAMA *et al.* avaliaram se a resistência à insulina e a hiperinsulinemia poderiam ser secundárias ao aumento de triacilgliceróis em tecidos. Para tanto, os pesquisadores avaliaram se o conteúdo de triacilgliceróis em alguns tecidos alvos da insulina, como o músculo esquelético e o fígado, bem como o pâncreas, se correlacionava com a eficácia da insulina e a taxa de sua secreção. Obtiveram correlações entre o conteúdo de triacilgliceróis no músculo esquelético, fígado, pâncreas e a insulina basal *versus* a glicose plasmática e função das células β . Os autores concluíram que este achado é consistente com a hipótese de que o conteúdo de triacilgliceróis em tecidos, como por exemplo o músculo, estabelece tanto o nível de resistência à insulina quanto a produção desse hormônio.

Outros estudos também demonstraram a relação entre os triacilgliceróis intramuscular e a resistência à insulina (PAN *et al.*, 1997; KRSSAK *et al.*, 1999; MANCO *et al.*, 2000).

Um mecanismo adicional que pode contribuir para a resistência à insulina, foi sugerido por BJÖRNTORP, (1996), que verificou que no paciente obeso, a habilidade da insulina de aumentar o fluxo sanguíneo no músculo esquelético estaria reduzida, se correlacionando com a redução da utilização de glicose. O autor sugere que o aumento no *tonus* arterial deve ser em função da redução da resposta vasodilatadora mediada pela insulina, o que seria um fator contribuinte para um defeito na utilização periférica da glicose.

Finalmente, a etiologia molecular da resistência à insulina é multifatorial, onde vários mecanismos contribuem para o fenômeno final. Considerando-se que os efeitos metabólicos da insulina são mediados pelas rápidas alterações na fosforilação e função de proteínas, a redução na atividade quinase do receptor deste hormônio é portanto importante para a manifestação da resistência à insulina.

2.2. Zinco

O papel do zinco na nutrição humana tem sido cada vez mais ressaltado e tem havido um progresso dos conhecimentos no que diz respeito aos aspectos bioquímicos, imunológicos e clínicos. A importância deste mineral foi demonstrada com a descoberta de processos metabólicos envolvendo esse mineral em diversas atividades enzimáticas. Ele participa do metabolismo energético, como componente catalítico de mais de 300 metaloenzimas nos tecidos humanos, e como componente estrutural de diversas proteínas, hormônios e nucleotídeos (PRASAD, 1988; GUTHRIE & PICCIANO, 1994; KREBS & HAMBIDGE, 1997).

O conteúdo de zinco difere entre os alimentos, variando de 0,002mg/100g de clara de ovo, 1mg/100g de frango até 75mg/100g de ostras. Os alimentos considerados como melhor fonte de zinco são os mariscos, ostras, carnes vermelhas, fígado, miúdo e ovos. Os produtos animais, especialmente carnes, fornecem ao redor de 70% do zinco consumido pelos americanos (KING & KEEN, 1994; SANDSTRÖM, 1997).

O teor de fitato presente nos alimentos, como grãos de cereais integrais e de leguminosas, reduz a absorção de zinco, sendo que a razão molar fitato: Zn acima de 10:1, pode afetar a absorção (SANDSTRÖM, 1997).

A absorção do zinco ocorre predominantemente no jejuno. No lúmen intestinal o zinco forma complexos com ligantes endógenos e exógenos. Estes compostos conhecidos como fatores intraluminais facilitadores da absorção de zinco, incluem: aminoácidos, principalmente a histidina e a cisteína, e algumas prostaglandinas, fosfatos, ácido picolínico, ácido cítrico, e outros ácidos orgânicos (COUSINS & HEMPE, 1990; COUSINS, 1996).

Outros fatores que podem influenciar a captação e o transporte celular de zinco são mostrados a seguir:

Fatores que influenciam a captação e o transporte celular de zinco

Dietéticos

Forma química do elemento na dieta

Presença de ligantes antagonistas: taninos, polifenóis, oxalatos e fitatos

Presença de ligantes facilitadores: aminoácidos, ácidos orgânicos

Conteúdo de minerais (Fe e Cu)

Lúmen Intestinal

pH

Eficiência da hidrólise dos nutrientes

Mucosa intestinal

Fatores genéticos, prejuízos na absorção

Mudanças na estrutura e função da mucosa

Álcool e drogas

Fatores sistêmicos

Estado de anabolismo aumentado: crescimento, gestação e lactação

Estados que sucedem o catabolismo

Influências endócrinas

Função hepática e renal

Infecção e estresse

Fonte: Adaptada de AGGETT & COMERFORD (1995)

A captação do zinco pela superfície da borda em escova ocorre por meio de dois mecanismos de transporte: processo mediado por carreadores e por difusão simples. A concentração de zinco na dieta é o fator que determina o mecanismo de transporte utilizado. O mecanismo mediado por carreador, predomina em situação de baixa concentração de zinco na dieta, enquanto que a absorção por difusão simples é predominante, quando a concentração desse mineral na dieta é elevada (COUSINS & HEMPE, 1990).

Dentro das células intestinais, o zinco liga-se à metalotioneína, proteína responsável pela regulação homeostática de sua absorção. A expressão gênica dessa proteína é estimulada por hormônios, como por exemplo os glicocorticóides e pela alta ingestão alimentar de zinco.

Outra proteína presente na mucosa intestinal, é a proteína intestinal rica em cisteína (CRIP). Essa proteína liga-se ao zinco dentro do enterócito e tem função de carreador intracelular, aumentando a velocidade de absorção. Quando em estado de elevada concentração de zinco no organismo, esse mineral permanece ligado à metalotioneína, sendo em seguida excretado nas fezes, juntamente com as células intestinais descamadas. Por outro lado, em situação de deficiência, o zinco é transferido à CRIP, e é então transportado para a corrente sanguínea (KING & KEEN, 1994; GUTHRIE & PICCIANO, 1994).

Genes envolvidos na síntese de proteínas e que participam do transporte de zinco foram clonados recentemente. O ZNT-1 foi o primeiro transportador a ser clonado. É encontrado em todos os tecidos e está associado com o efluxo de zinco, sendo que nos enterócitos e nas células tubulares renais localiza-se predominantemente na membrana basolateral, onde regula respectivamente a absorção e reabsorção de zinco. Outros transportadores também já foram identificados, o ZNT-2, ZNT-3 e ZNT-4 e o DCT1 que participa do transporte do ferro, porém também exibe atividade de transporte para outros minerais, como por exemplo o zinco (McMAHON & COUSINS, 1998).

Após absorção e liberação da célula intestinal pela membrana basolateral por meio dos transportadores, o zinco passa para os capilares mesentéricos e é transportado no sangue portal, sendo captado pelo fígado e subseqüentemente distribuído para outros tecidos (KING & KEEN, 1994).

O conteúdo total de zinco no organismo varia de 1,5 a 2g, sendo que 80% deste é encontrado no músculo esquelético e osso. Esse mineral é também encontrado no intestino, fígado, baço, rins, pele, cabelo, saliva, e em outros tecidos, fluídos e secreções do organismo. A maior parte do zinco no organismo está ligada a metaloenzimas. Aproximadamente 80% do zinco presente no sangue encontra-se nos eritrócitos. No plasma o zinco está ligado à albumina, macroglobulina e aminoácidos (GIBSON, 1990).

Após a absorção, o zinco é transportado no plasma ligado à albumina (57%), α 2- macroglobulina (40%), e alguns aminoácidos (3%) especialmente a cisteína e a histidina. A excreção de zinco ocorre primariamente pelo trato gastrointestinal (KING & KEEN, 1994).

O zinco exerce diversas funções no metabolismo energético e atua como componente de várias enzimas essenciais para o metabolismo dos carboidratos, lipídeos e proteínas possuindo funções estruturais e catalíticas importantes na formação de tecidos e na ativação de receptores hormonais.

Além do crescimento e desenvolvimento normal, o zinco também é importante para a manutenção do apetite, do paladar, da capacidade de cicatrização e para a visão noturna (PRASAD, 1983; PRASAD, 1996). A necessidade desse mineral para a imunidade mediada por células, proteção antioxidante e estabilização de membranas, também tem sido indicada em diversos estudos (PRASAD, 1983; VALLEE & FALCHUK, 1983; PRASAD, 1991; GUTHRIE & PICCIANO, 1994).

GUTHRIE & PICCIANO em 1994, verificaram que a manutenção e replicação do material genético (DNA e RNA), e o uso de informação genética para gerar proteínas específicas, são também dependentes desse mineral.

Novas pesquisas têm demonstrado que a quantidade de zinco presente na dieta pode influenciar a expressão gênica (COUSINS, 1998). Este mineral pode atuar diretamente por meio de ligação com fatores de transcrição, como por exemplo o fator de transcrição da metalotioneína (MTF) (COUSINS, 1994), ou de forma indireta, estimulando os mediadores secundários, que também estimulam a transcrição gênica (COUSINS, 1998).

O papel fisiológico do zinco como antioxidante é evidenciado fundamentalmente por dois mecanismos: proteção de grupos sulfidrilos contra oxidação e inibição da produção de espécies reativas de oxigênio por metais de transição. Estes aspectos reforçam o papel do zinco como estabilizador de membrana plasmática e de outras membranas e organelas encapsuladas (BRAY & BETTGER, 1990).

A deficiência do zinco tem sido associada com a concentração de fitato presente nas dietas. Os cereais integrais possuem este composto em grande quantidade e experimentos têm demonstrado ser este um dos fatores responsáveis pela baixa biodisponibilidade de Zn nessas dietas. Portanto, populações que ingerem quantidades elevadas desses alimentos poderão estar sujeitas à deficiência desse mineral (PRASAD, 1991; SANDSTRÖM, 1997). Associado a isso, o consumo inadequado de zinco, alimentação parenteral sem inclusão de zinco, alcoolismo, síndrome de má-absorção, anemia falciforme, cirrose hepática e outras doenças cronicamente debilitantes são considerados fatores predisponentes para o desenvolvimento da deficiência desse mineral (PRASAD, 1983; PRASAD, 1991).

Considerando os diversos papéis metabólicos do zinco no organismo, a deficiência desse mineral afeta vários tecidos e, conseqüentemente, desencadeia diversos sintomas, tais como: retardo no crescimento, atraso na maturidade esquelética e sexual, disfunções imunológicas (mediadas por células), ocorrendo infecções recorrentes, alterações no paladar, diarreia, dermatite e alopecia (SANDSTRÖM, 1991; KREBS & HAMBIDGE, 1997; PRASAD, 1998).

A avaliação do estado nutricional em relação ao zinco, compreende medidas do consumo alimentar, concentrações de zinco plasmático, zinco eritrocitário, urinário e parâmetros funcionais, como a análise da atividade de metaloenzimas: anidrase carbônica, fosfatase alcalina e carboxipeptidases. Apesar da existência de vários parâmetros biológicos, ainda existem muitas dificuldades para determinação do estado nutricional dos indivíduos em relação a esse mineral (GIBSON, 1990).

A concentração de zinco no plasma é o índice que mais tem sido utilizado para avaliar o estado nutricional relativo ao zinco e responde rapidamente a qualquer variação deste. Entretanto, este índice é influenciado tanto pelo estado fisiológico quanto pelo patológico (GIBSON, 1990; PERETZ *et al.*, 1991). A concentração de zinco eritrocitário reflete

alterações a médio e longo prazo nos estoques desse mineral no organismo, e a variação indicada é devida à meia vida mais longa dos eritrócitos (120 dias) (HINKS, 1983).

A avaliação do consumo alimentar do mineral pode ser feita por meio da utilização de tabelas de alimentos ou pela técnica da porção em duplicata que oferece um resultado mais confiável que o das tabelas (COZZOLINO, 1997). Esta técnica consiste em se obter uma duplicata exatamente igual à dieta ingerida e se analisar quantitativamente os minerais de interesse.

2.3. Estudos sobre zinco e insulina

A participação do zinco na cristalização da insulina foi evidenciada por SCOTT em 1934. Os estudos que relacionavam este mineral com a obesidade, sugeriram que as alterações encontradas na sua distribuição tecidual estariam relacionadas com distúrbios na atividade da insulina, principalmente no que diz respeito à secreção pancreática e ação desse hormônio nos tecidos (LEVINE *et al.*, 1983).

A insulina possui uma estreita relação estrutural e funcional com o zinco. Embora o complexo zinco-insulina não pareça ser necessário para a ação desse hormônio, é estabelecido que muitas interações ocorrem entre o zinco e o metabolismo da insulina. Além disso, relata-se que a remoção do zinco altera a estrutura desse hormônio, podendo reduzir sua ação em tecidos periféricos (LEVINE *et al.*, 1983).

A propriedade da insulina em se complexar com o zinco, foi demonstrada *in vitro* por MASKE & GERMANY (1957), o que explicaria a influência do zinco na solubilidade e armazenamento deste hormônio nos grânulos das células beta do pâncreas.

ARQUILLA *et al.* (1978) demonstraram em camundongos obesos que o zinco aumenta a proporção de ligação da insulina aos seus receptores. Por outro lado, QUARTERMAN *et al.* (1966), verificaram que ratos deficientes

em zinco, apresentaram redução da habilidade do pâncreas para secretar insulina em resposta à glicose.

COULSTON & DADONA (1980) observaram em adipócitos de ratos, que o zinco tem um efeito estimulatório da lipogênese, similar à ação da insulina, e que esse efeito é somado quando os dois são incubados em conjunto. Os autores discutiram que a importância do zinco na interação zinco/adipócito deve-se ao efeito sobre o aumento da capacidade de ligação da insulina aos seus receptores.

ROSSETTI *et al.* (1990) avaliaram *in vivo*, o efeito de alguns minerais (lítio, vanádio, magnésio e zinco) sobre a tolerância à glicose, a utilização da glicose mediada pela insulina e a síntese de glicogênio no músculo e no fígado de ratos diabéticos. Os resultados deste estudo mostraram que a terapia com zinco, magnésio e vanádio, isolada ou em combinação, poderia melhorar a sensibilidade à insulina, e que a redução destes minerais poderia contribuir para a patogênese de alguns estados de resistência à insulina. Segundo os autores, mais investigações seriam necessárias para definir o papel da depleção intracelular de elementos com propriedades insulinomiméticas na redução da sensibilidade à insulina, normalmente presente no *diabetes mellitus* tipo 2, na obesidade, na hipertensão arterial.

No estudo de FAURE *et al.* (1991), foi observado que a depleção de zinco em ratos, diminui a atividade da insulina. Em um outro estudo desses mesmos autores em 1994 (FAURE *et al.*, 1994) avaliando o papel do zinco sobre a atividade da insulina, demonstraram que o zinco pode modular a transcrição do receptor de insulina, por meio das proteínas dedos de zinco, semelhante a Sp1, que contém três dedos de zinco necessários para sua ligação. Os sítios de ligação Sp1 são necessários para ativar a expressão do receptor de insulina, conforme já demonstrado por ARAKI *et al.* (1991).

Em 1991, CHEN *et al.* determinaram as concentrações séricas de zinco e de insulina em indivíduos obesos com *diabetes mellitus* tipo 2, e os resultados mostraram que esses indivíduos tinham níveis de insulina

maiores do que os indivíduos controles, além de baixa concentração sérica de zinco, que foi inversamente correlacionada aos níveis desse hormônio.

LIN *et al.* em 1992, investigaram a distribuição e a concentração de alguns oligoelementos em camundongos obesos que apresentavam hiperinsulinemia. Encontraram alterações na distribuição de zinco nos tecidos e na concentração desse mineral no soro que foram inversamente correlacionadas à gordura corpórea. De acordo com os autores, a distribuição de zinco nos tecidos, estaria relacionada com o desenvolvimento da obesidade.

CHEN *et al.* (1997) avaliaram a concentração de zinco no plasma durante o teste oral de tolerância à glicose em 10 indivíduos obesos e 11 indivíduos controles. Os autores verificaram que os indivíduos obesos apresentaram uma redução na concentração desse mineral no plasma ($13,5 \pm 1,0 \mu\text{mol/L}$), com diferença estatística significativa quando comparados com o grupo controle ($18,1 \pm 0,9 \mu\text{mol/L}$). As concentrações de insulina dos indivíduos obesos e do grupo controle foram de $207,0 \pm 21,6 \text{ pmol/L}$ e de $41,4 \pm 7,2 \text{ pmol/L}$ e as de glicose foram de $5,4 \pm 0,1$ e $3,3 \pm 0,2 \text{ mmol/L}$, respectivamente.

De acordo com os resultados do estudo supra citado, os indivíduos obesos apresentaram baixo nível de zinco no plasma, e este, estava inversamente correlacionado à glicemia e à insulina plasmática. A concentração deste mineral no plasma não foi alterada com a hiperglicemia induzida pela administração de glicose, sugerindo que não há uma mobilização de zinco dos tecidos pela hiperglicemia, ou seja, a redução da concentração deste mineral no plasma não reflete uma alteração metabólica a curto prazo.

Em outro estudo desses mesmos autores em 1998 (CHEN *et al.* 1998), foi avaliado o efeito da suplementação com zinco sobre a hiperinsulinemia, hiperglicemia em camundongos obesos diabéticos com resistência à insulina. Verificaram uma redução da insulina plasmática e na resposta glicêmica de 34% e 42% respectivamente. Os autores sugeriram

que o efeito do zinco sobre a redução da insulina no plasma, poderia ser atribuído ao efeito direto desse mineral na redução da secreção pancreática da insulina ou, ainda, na potencialização da ação desse hormônio em tecidos periféricos.

MARCHESINI *et al.* (1998) também avaliaram o efeito da suplementação com zinco (136 mg/dia) durante 60 dias, sobre a utilização de glicose, em 10 pacientes cirróticos que apresentavam intolerância à glicose e deficiência de zinco. Observaram melhora na utilização da glicose, e nenhum efeito sobre a secreção pancreática e sensibilidade da insulina. Os autores sugeriram que a ação do zinco estaria relacionada ao aumento da atividade dos transportadores de glicose independente de insulina (GLUT 1 e GLUT 2) sobre a membrana plasmática, ou ainda por uma modificação da estrutura destes transportadores.

Os resultados de vários estudos demonstram a importância da proteção dos grupos tiol na tradução do sinal da insulina e que o zinco participa nesta proteção, exercendo assim, um efeito benéfico sobre a sensibilidade deste hormônio. De acordo com FAURE *et al.* (1999) a importância deste mineral na proteção dos grupos tiols, abre perspectivas para utilização deste mineral no paciente diabético e em estágios pré-diabéticos.

Uma redução da atividade da insulina foi evidenciada em ratos deficientes em zinco, bem como uma melhora da atividade deste hormônio foi observada após a suplementação com este mineral. Por outro lado, altas doses de zinco, também têm sido relacionadas à uma redução na sensibilidade à insulina (FAURE *et al.*, 1999).

MARREIRO, (1999) avaliou o estado nutricional relativo ao zinco de crianças e adolescentes obesos que foram comparados a um grupo controle. As concentrações de zinco no plasma e eritrócito foram significativamente menores para o grupo obeso e a excreção de zinco na urina, foi maior para o grupo obeso. Paralelamente, também observou-se uma elevada concentração de insulina plasmática.

2.4. Estudos sobre zinco e intolerância à glicose

Em 1968, BOQUIST *et al.* observaram uma redução na tolerância à glicose, sem alteração na produção de insulina em ratos deficientes em zinco em resposta à infusão de glicose. Estes resultados sugeriram que a deficiência de zinco poderia inibir os eventos intracelulares pós-receptor de insulina, o que resultaria em redução na tolerância à glicose, bem como uma diminuição na secreção de insulina, tendo em vista que o aumento da glicose, leva a uma maior resposta à insulina. Segundo CHAUSMER, 1998, estes resultados sugerem que a deficiência de zinco também reduziria a habilidade do pâncreas em responder adequadamente.

HENDRICKS *et al.* (1972), não verificaram intolerância à glicose em ratos deficientes em zinco quando comparados ao grupo controle, durante um teste oral de tolerância à glicose. Posteriormente outros autores ROTH & KIRCHGESSNER, (1981); PARK *et al.* (1986), verificaram intolerância à glicose em ratos deficientes em zinco.

Um mecanismo proposto por WHEELER *et al.* (1985), para esclarecer o efeito da deficiência de zinco sobre o metabolismo periférico de glicose, diz respeito ao papel deste mineral na translocação de transportadores no interior da célula, ou por alteração na estrutura do transportador de glicose.

BRANDÃO NETO *et al.* (1990) observaram que não houve alterações nos níveis de glicose, nem de insulina plasmática, ao realizarem teste de tolerância oral a glicose em indivíduos saudáveis que recebiam altas doses de zinco.

Posteriormente em 1991, BRANDÃO NETO *et al.* observaram que indivíduos normais sob condições agudas de hiperglicemia, hipoglicemia e hiperinsulinemia, não sofreram alterações nos níveis de zinco sérico.

FAURE *et al.* (1992), levantaram a hipótese de que o efeito da deficiência de zinco sobre o metabolismo periférico da glicose, estaria relacionado ao papel deste mineral como antioxidante biológico. O aumento

da peroxidação lipídica, comum em indivíduos diabéticos, seria atribuído à redução da atividade da superóxido dismutase, dependente de zinco, o que favoreceria o aparecimento de alterações na fluidez da membrana e na ação da insulina sobre o transporte de glicose.

BRANDRÃO NETO *et al.* (1999) avaliaram o efeito agudo do zinco sobre o metabolismo dos carboidratos em indivíduos saudáveis e em pacientes diabéticos dependentes de insulina. Estes autores observaram uma redução significativa da concentração do cortisol plasmático, porém as concentrações plasmáticas de glicose, de peptídeo C e de glucagon, permaneceram constantes durante o experimento, em ambos os grupos estudados.

2.5 Leptina e glicocorticóides

Estudos realizados recentemente, têm investigado os mecanismos pelos quais o zinco atua estimulando a insulina, para reduzir a hiperglicemia em animais obesos e/ou diabéticos. Nesses trabalhos, foi demonstrado que indivíduos deficientes em zinco, possuem baixa concentração de leptina sérica.

Em 1998, MANGIAN *et al.* avaliaram a concentração de leptina sérica em ratos deficientes em zinco e após a suplementação deste mineral. Os autores verificaram baixa concentração de leptina durante a deficiência de zinco, e um aumento deste hormônio após a suplementação.

Em um estudo realizado em humanos por MANTZOROS *et al.* (1998), foi avaliada a relação entre o estado nutricional relativo ao zinco e a concentração de leptina sérica em indivíduos com deficiência deste mineral, induzida pela dieta, antes e após a suplementação. A deficiência de zinco reduziu a concentração de leptina sérica, enquanto que a suplementação aumentou os níveis deste hormônio. Além disso, a suplementação com zinco também aumentou a produção de interleucina 2 (IL-2) e do fator de necrose

tumoral (TNF α). Já foi demonstrado em outros estudos, que estas citocinas aumentam a produção de leptina (SARRAT *et al.*, 1997; KIRCHGESSNER *et al.*, 1997). Segundo estes últimos autores, não está claramente definido se o zinco regula a expressão de leptina diretamente, ou indiretamente por meio do aumento da produção de interleucina-6 e do TNF- α .

Em um estudo mais recente, CHEN *et al.* (2000) avaliaram o efeito da suplementação com zinco sobre as concentrações de glicose, fator de necrose tumoral (TNF α) e leptina em camundongos diabéticos induzidos por estreptozotocina. Os autores observaram uma redução significativa da glicemia e um aumento da concentração de TNF α e da leptina sérica após a suplementação.

Nesses três últimos estudos acima citados, os autores sugeriram que o provável mecanismo para o efeito do zinco na redução da hiperglicemia em animais obesos e/ou diabéticos, seria por meio do aumento da expressão da leptina induzida por este mineral (MANGIAN *et al.*, 1998; MANTZOROS *et al.*, 1998; CHEN *et al.*, 2000).

Trabalhos recentes têm demonstrado uma interação entre o zinco e os glicocorticóides nas alterações do metabolismo da glicose. No estudo de TELFORD & FRAKER (1997), foi demonstrado que o zinco inibe a ligação dos glicocorticóides ao seu receptor, e que existe uma região de ligação do zinco no receptor destes hormônios.

NOBILI *et al.* (1997) verificaram que ratos deficientes em zinco apresentam elevadas concentrações de glicocorticóides e reduzida função da insulina. Elevadas concentrações de glicocorticóides, leva a uma redução dos níveis de zinco no plasma e aumento da captação de zinco pelo fígado (COUSINS, 1996).

Os mecanismos envolvidos na participação do zinco na resistência à insulina estão resumidos na **Figura 4**.

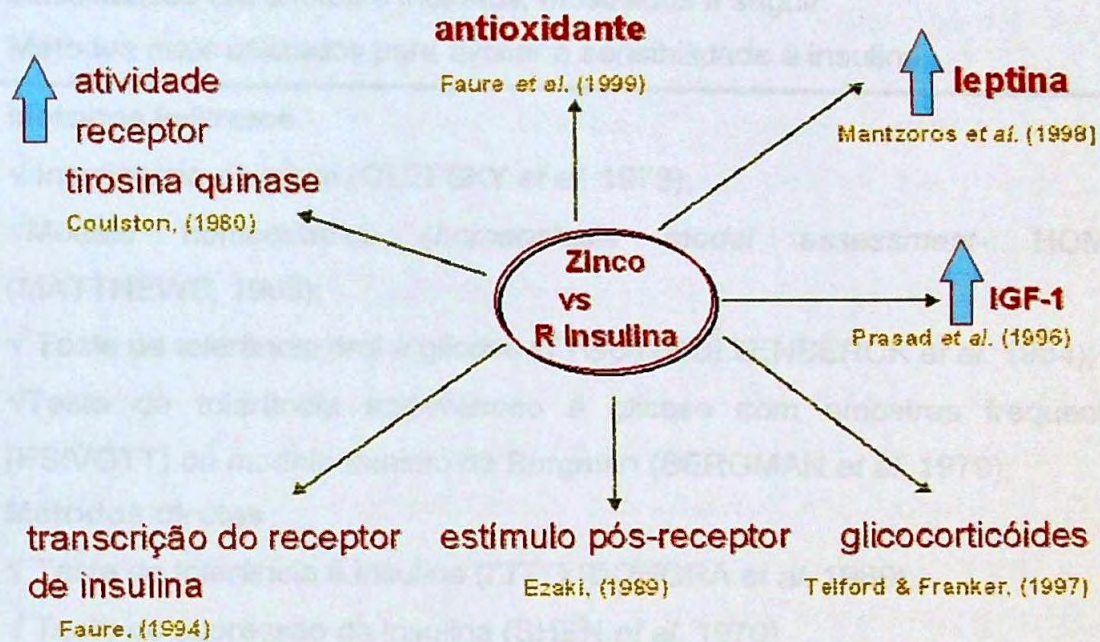


Figura 4. Zinco e resistência à insulina -mecanismos envolvidos.

Diante desta diversidade de relatos sobre os mecanismos envolvidos no quadro de resistência à insulina, bem como a participação do zinco neste processo, ainda com evidências bioquímicas não totalmente definidas, nos propusemos a desenvolver este projeto de pesquisa.

2.6. Métodos de investigação clínica da resistência à insulina

Existes vários métodos para avaliar a sensibilidade à insulina que são classificados em diretos e indiretos, mostrados a seguir:

Métodos mais utilizados para avaliar a sensibilidade à insulina

Métodos Indiretos

- √ Insulinemia de jejum (OLEFSKY *et al.* 1973);
- √ Modelo homeostático (*homeostasis model assessment- HOMA*) (MATTHEWS, 1985);
- √ Teste de tolerância oral à glicose (TTGO) (HOLLENBERCK *et al.* 1984);
- √ Teste de tolerância endovenoso á glicose com amostras frequentes (FSIVGTT) ou modelo mínimo de Bergman (BERGMAN *et al.* 1979);

Métodos diretos

- √ Teste de tolerância à insulina (KITT) (BONORA *et al.* 1989);
 - √ Teste de supressão da insulina (SHEN *et al.* 1970);
 - √ Teste do clamp de glicose (DEFRONZO *et al.* 1979).
-

A avaliação da resistência à insulina por métodos sofisticados como o Clamp não estão disponíveis para a maioria dos investigadores e também necessitam muito tempo tanto do paciente quanto do médico. Portanto, foram desenvolvidos outros métodos mais simples, com menor custo e de fácil aplicabilidade. O HOMA é um modelo matemático que prediz a sensibilidade à insulina pela simples medida da glicemia e insulina de jejum (MATTHEWS, 1985). Deste método são extraído dois índices (Homa -IR e Homa-beta) que visam traduzir a sensibilidade à insulina e capacidade secretória da célula beta, ou em outras palavras a resistência à insulina e a função da célula beta. Eles se baseiam em dados da literatura para construir curvas relacionando glicemia do estado de homeostasia com a resposta insulínica em indivíduos saudáveis e com variados graus de comprometimento da função de célula beta. Em resumo, o modelo prediz uma insulinemia e glicemia para uma dada sensibilidade à insulina.

Inversamente, se conhecidas simultaneamente a glicemia e insulinemia, o modelo pode fornecer o índice Homa -IR pela seguinte equação:

$$\text{Homa - IR} = \text{Glicemia (mmol/L)} \times \text{Insulina (\mu U/mL)} \div 22,5$$

A resistência à insulina medida pelo HOMA possui uma correlação positiva e altamente significativa com o Clamp ($r = 0,82 - p < 0,0001$) (MATTHEWS, 1985). O método pressupõe premissas questionadas por outros autores. A primeira relacionada à estimativa de um índice com parâmetros exclusivos do jejum, no qual estão captando glicose principalmente os tecidos insulino-independentes. A segunda questão diz respeito à proporcionalidade entre a insulinemia e o grau de RI. Por fim, o Homa propõe-se a estimar a sensibilidade à insulina para o corpo-total, assumindo que a RI seria a mesma no fígado e nos tecidos periféricos. As críticas relacionadas à especificidade dos ensaios de insulina podem ser refutadas pela simples utilização de ensaios específicos para insulina, ou que não sofram influência dos níveis de pró-insulina. Apesar destas críticas, especialmente provindas de grupos para os quais o Clamp está disponível, o Homa tem ganhado aceitação com novos e extensos estudos realizados em indivíduos com variados graus de obesidade e tolerância à glicose (BONORA, 2000). O Homa é sim um método adequado para estudos em larga escala nos quais apenas dados do jejum estão disponíveis. Na opinião de GELONEZE, (2001) o Homa pode ser uma valiosa alternativa às técnicas mais sofisticadas e trabalhosas na avaliação da resistência à insulina em humanos.

A escolha do método para avaliar a sensibilidade à insulina, depende do objetivo de sua investigação. O Clamp euglicêmico hiperinsulinêmico e o teste de supressão de insulina são indicados para estudos em grupos experimentais. Estes métodos possuem vantagens e limitações. O Clamp euglicêmico hiperinsulinêmico em particular, fornece informações reprodutíveis sobre a ação tecidual da insulina. Esta técnica permite examinar as contribuições individuais do fígado e tecidos periféricos na metabolização da glicose induzida pela insulina. Além disso pode ser

combinado com outras técnicas como calorimetria indireta, estudos com radioisótopos, etc. para examinar uma infinidade de aspectos relacionados a homeostasia da glicose.

Dentre as principais desvantagem do clamp podemos citar: os custos envolvidos em sua realização como bombas de infusão, aparelho de análise instantânea de glicose, bem como a necessidade de pessoal altamente especializado e treinado para sua realização.

Em relação ao HOMA, também é importante ressaltar que este método permite avaliar indivíduos em diferentes condições de gravidade de resistência à insulina. Além disso, esta técnica apresenta boa correlação com o padrão-ouro (clamp). Este método é mais barato e de maior facilidade de realização, sendo passíveis de utilização em larga escala para caracterizar a resistência à insulina em estudos populacionais, ou quando repetidas avaliações são necessárias em um mesmo indivíduo. A utilização de qualquer método laboratorial de avaliação de resistência à insulina na prática clínica em diabetologia ou metabologia ainda é motivo de debates e permanece um campo a ser explorado (GELONEZE, 2001).

3.0 - Objetivos

3.0 OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Avaliar o efeito da suplementação com zinco na resistência à insulina em mulheres obesas.

3.2 Objetivos Específicos

√ Caracterizar os grupos por meio da avaliação da composição corporal e de exames bioquímicos;

√ Avaliar a adequação da dieta em relação a macronutrientes e zinco;

√ Avaliar o estado nutricional relativo ao zinco das pacientes obesas no início do experimento e após a suplementação com zinco;

√ Correlacionar o estado nutricional relativo ao zinco das pacientes obesas com os dados bioquímicos relacionados à insulina;

√ Avaliar a resistência insulínica das pacientes obesas no início e após a suplementação com zinco;

√ Avaliar a concentração de leptina sérica das pacientes obesas no início e após a suplementação com zinco;

4.0 - Casuística e Métodos

4.0 CASUÍSTICA E MÉTODOS

4.1 Protocolo experimental

Após a aprovação do projeto de pesquisa pela Comissão de Ética da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo e do Hospital das Clínicas da FM/USP (**Anexo 1 e 2**), foi realizada uma convocação de voluntários por meio do setor de relações públicas do Hospital das Clínicas da FM/USP.

Aos pacientes que atenderam à chamada, era aplicado um questionário para averiguar se estes indivíduos estavam aptos a participar da pesquisa, de acordo com os critérios propostos para o desenvolvimento do trabalho, ao mesmo tempo em que se avaliava o peso e a altura para estabelecer se os mesmos encontravam-se na faixa do Índice de Massa Corpórea (IMC), de 30 a 39,9 kg/(m)². Posteriormente, se explicava os objetivos do estudo, e estes pacientes eram encaminhados para exames bioquímicos complementares (glicemia, insulinemia de jejum, perfil lipídico, hemograma completo e perfil hormonal). Finalmente, os indivíduos que apresentavam glicemia de jejum <110mg/dL eram selecionados para o início da pesquisa. A partir deste momento, o consentimento esclarecido por escrito foi obtido dos pacientes, após os mesmos terem recebido informações detalhadas sobre a natureza da investigação (**Anexo 3 e 4**).

Inicialmente não foi feita uma seleção por sexo, entretanto como a grande maioria da demanda do ambulatório de obesidade é do sexo feminino, optou-se por considerar apenas mulheres. Dos voluntários que compareceram, foram selecionados 74 indivíduos e destes 56 permaneceram até o final do estudo.

Assim, as pacientes obesas foram selecionadas de acordo com os seguintes critérios:

-Faixa etária entre 25 e 45 anos;

- Não apresentar obesidade mórbida ($IMC > 40 \text{ kg}/(\text{m})^2$)
- Ausência de suplementação vitamínico-mineral e/ou uso de outros medicamentos que pudessem interferir na avaliação do zinco e na resistência à insulina;
- Não fumantes;
- Ausência de reposição hormonal e/ou uso de contraceptivo oral;
- Não apresentar doenças que pudessem interferir no estado nutricional relativo ao zinco e na resistência insulínica, como por exemplo, *diabetes mellitus* tipo 2, síndrome do ovário policístico, hipertensão arterial, insuficiência renal crônica.

Finalmente, das 56 pacientes obesas selecionadas, metade recebeu uma suplementação com zinco na forma medicamentosa, contendo 30 mg de Zn aminoquelato durante um período de 30 dias, e as demais pacientes, receberam placebo pelo mesmo período. O estudo foi duplo cego (identificado pela cor), com seleção aleatória, à medida que as pacientes se apresentavam.

No momento da entrega do zinco, as pacientes eram orientadas a tomar as cápsulas entre as refeições, para evitar interações com os demais constituintes da dieta que pudessem interferir na biodisponibilidade do mineral.

Para seleção das pacientes foram seguidas as seguintes etapas:

- a) Seleção das pacientes obesas
 - b) Procedimentos éticos, consentimento esclarecido
 - c) Entrega de formulário para registro alimentar
 - d) Entrega de material para coleta de urina
 - e) Agendamento das coletas de sangue e de urina
 - f) Obtenção de amostras de sangue e urina de 24 horas
 - g) Realização de medidas de composição corporal
-

- h) Avaliação de consumo alimentar
- i) Realização de medidas bioquímicas

4.2 Avaliação da composição corporal

4.2.1 Parâmetros antropométricos

✓ Peso- (kg):

O peso corporal foi determinado com a utilização de uma balança digital Filizola®, com capacidade máxima de 150kg com graduações de 100 em 100 gramas, estando os participantes da pesquisa descalços e vestidos com roupas leves.

✓ Altura - (m):

A altura foi determinada por meio de um antropômetro de pé, graduado em centímetro e com barra de madeira vertical e fixa, com esquadro móvel, para posicionamento sobre a cabeça do indivíduo, estando os mesmos descalços, com os pés unidos, em posição ereta, olhando para frente (NOLASCO, 1995).

✓ Índice de Massa Corpórea (IMC)

A obesidade foi definida pelo “Índice de Quetelet” ou Índice de Massa Corpórea (IMC), que é definido como o peso do indivíduo (kg) dividido pela sua altura (m) elevada ao quadrado (Quetelet, 1871). O IMC parece ser um bom indicador da deposição do excesso de energia na forma de gordura em adulto, porém não revela o percentual de gordura corporal. O **Quadro 1** mostra a classificação da obesidade de acordo com o IMC (WHO, 1997; Instituto Nacional de Saúde, 1998).

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

Quadro 1. Classificação da obesidade em adultos de acordo com IMC.

Classificação	IMC (kg/(m) ²)
Normal	18,0 – 24,9
Sobrepeso	25,0 – 29,9
Obesidade grau I	30,0 – 34,9
Obesidade grau II	35,0 – 39,9
Obesidade grau III	≥ 40,0

Fonte: National Institute of Health (1998).

As medidas das dobras cutâneas foram realizadas utilizando-se um adipômetro LANGE Skinfold Caliper (Cambridge Scientific Industries Inc.), com pressão de 10g/mm² na superfície de contato. Cada dobra foi aferida em três medidas, adotando-se a média entre elas de acordo com o **Anexo 5** (DURNIN & WOMERSLEY, 1974; FRISANCHO, 1981; FRISANCHO, 1984).

✓ **Dobra Cutânea Tricipital –(mm):** foi medida na parte posterior do antebraço, sobre o músculo tríceps, no ponto médio entre o acrômio e o olécrano.

✓ **Dobra Cutânea Bicipital –(mm):** também foi obtida em milímetros, com o mesmo procedimento para dobra cutânea do tríceps, sendo sobre o músculo bíceps.

✓ **Dobra Cutânea Subescapular –(mm):** foi medida logo abaixo da extremidade da escápula esquerda. A pele e o subcutâneo foram pinçados logo abaixo da borda da escápula e a dobra foi angulada em 45° a partir do plano horizontal, dirigindo-se superiormente para dentro, onde colocou-se o compasso 1cm abaixo dos dedos que pinçavam a dobra e se fez a leitura após três medidas, obtendo-se a média.

✓ **Dobra Cutânea Suprailíaca –(mm):** pinçava-se a dobra logo acima da crista ilíaca no sentido vertical, segundo a linha axilar média, colocando-se o compasso a 1cm abaixo dos dedos que pinçava a dobra e, sem soltar, fez-se a leitura, que foi repetida por três medidas, adotando-se a média entre elas.

Aferidas as dobras cutâneas descritas anteriormente, obteve-se a somatória das mesmas (ΣD), para o cálculo da porcentagem de gordura corpórea (%GC), mediante a aplicação da fórmula de DURNIN & WOMERSLEY, (1974). Esta fórmula utiliza o logarítmo da soma das 4 dobras cutâneas medidas (tricipital, bicipital, subescapular e suprailíaca).

✓ **Circunferências**

As medidas da cintura e quadril foram obtidas considerando-se a menor e a maior medida em cada região, respectivamente. Para

determinação da razão cintura/quadril, dividiu-se o valor da circunferência da cintura pelo valor da circunferência do quadril (KIRK & LOGGIE, 1996).

As medidas das dobras cutâneas e as circunferências da cintura e do quadril foram realizadas pela responsável pela pesquisa.

4.2.2. Impedância bioelétrica

Ainda em relação a avaliação da composição corporal, realizou-se a impedância bioelétrica com o aparelho BIODYNAMICS modelo 310, Body Composition Analyser - USA.

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

➤ Pé direito: o eletrodo distal na base do dedo médio e o eletrodo proximal um pouco acima da linha da articulação do tornozelo, entre os moléolos medial e lateral da tíbia.

➤ Mão direita: o eletrodo distal na base do dedo médio e o eletrodo proximal um pouco acima da linha da articulação do punho, coincidindo com o processo estilóide.

Após colocação dos eletrodos, os cabos sensores eram conectados no monitor e suas extremidades nos eletrodos, em seguida eram digitados os dados referentes ao sexo, idade, altura e peso, e, dessa forma, obteve-se um relatório sobre a composição corporal (BIODYNAMICS, 1995).

4.3. Parâmetros Dietéticos

4.3.1. Avaliação do Consumo Alimentar

A avaliação do consumo de alimentos foi feita por meio de um inquérito alimentar realizado de acordo com a técnica de *Registro de Alimentos* durante três dias, compreendendo dois dias da semana e um dia do final de semana (**Anexo 7**). No momento da entrega dos formulários às pacientes procedeu-se à orientação quanto à forma correta de anotar os alimentos, discriminando o tipo de refeição, preparações, porcionamento, medidas caseiras, quantidades e horários em que foram consumidas. Esta metodologia foi escolhida devido a possibilidade de abranger, a curto prazo, a variabilidade de alimentos consumidos por um grupo de indivíduos (BASLOTIS *et al.*, 1987).

Os inquéritos alimentares foram analisados pelo programa computadorizado "Virtual Nutri", da Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo (PHILIPPI *et al.*, 1996).

Os alimentos não encontrados no programa com suas respectivas medidas caseiras, foram incluídos na determinação da composição de nutrientes, tomando-se por base as tabelas de composição de alimentos específicas (Mc CANCE & WIDDOWSON'S, 1991; PINHEIRO *et al.*, 1996).

4.4. Material e procedimentos

4.4.1. Coleta de material biológico e separação dos componentes do sangue

Amostras de 25mL de sangue foram retiradas no período da manhã, 7:30 às 9:00 horas, estando os indivíduos em no mínimo 12h de jejum. O sangue foi coletado com seringas plásticas descartáveis e agulhas de aço inoxidável, estéreis e descartáveis, sendo a seguir distribuído em tubos

distintos: (1) tubo de vidro contendo citrato de sódio a 30% como anticoagulante (10 µg/mL de sangue), para análise de zinco; (2) tubo de vidro sem anticoagulante para análise de insulina e leptina (5mL); (3) tubo de vidro contendo fluoreto oxalato como anticoagulante para determinação de glicose (3mL) e; (4) tubo sem anticoagulante para análise de frações lipídicas (colesterol total, triacilgliceróis, HDL-C, LDL-C e VLDL-C). 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 “ependorfs” de polipropileno desmineralizados, sendo a seguir conservados a -20° C para análises posteriores.

Para a separação do eritrócito e subsequente determinação de zinco foi padronizado o método de WHITEHOUSE *et al.* (1982). A massa eritrocitária obtida do sangue total, foi lavada três vezes com 5mL de solução salina à 0,9%, homogeneizada lentamente por inversão e centrifugada a 10000 x g por 10 minutos (SORVALL® RC5C) a 4° C, sendo o sobrenadante descartado. Após a última centrifugação, a solução salina foi aspirada, a massa de eritrócitos foi cuidadosamente extraída com micropipeta, colocada em tubos “ependorfs” desmineralizados, e acondicionada à -20°C, para análises de zinco e hemoglobina.

4.4.2. Obtenção de urina de 24 horas

A coleta de urina de 24 h foi feita em garrafas de plástico desmineralizadas, sem conservantes, com auxílio de funis desmineralizados entregues aos participantes, seguramente fechadas, envoltas em sacos plásticos e etiquetadas com as instruções necessárias (**Anexo 6**).

Ao receber a amostra, foi feita a homogeneização e a medida do volume urinário. Em seguida, separaram-se alíquotas para as determinações de creatinina e zinco, que foram adequadamente conservadas, em frascos

plásticos desmineralizados, sem conservantes, mantendo-as em freezer à temperatura de -20° C.

4.4.3. Controle de contaminação

Toda vidraria e recipientes plásticos utilizados para análises de zinco foram cuidadosamente desmineralizados em banho de ácido nítrico a 30%, no mínimo por 12 horas, enxaguados em água desmineralizada, assim minimizando a contaminação por minerais.

4.4.4. Reagentes

Todos os reagentes utilizados nas análises foram de grau de pureza analítica P.A. A água utilizada para o preparo das soluções e diluição das amostras foi desionizada e/ou tipo Milli-Q®.

4.4.5. Controle da metodologia de análise de zinco

Para controle da metodologia de análise de zinco, utilizou-se o padrão de referência, material certificado "*Second-Generation*" *Biological Reference Material (Freeze-Dried human Serum for trace element determinations)*. Foi preparado juntamente com as demais análises, diluído em água Milli-Q®, na quantidade recomendada para obtenção dos valores dentro do intervalo de confiança determinado.

4.5 Medidas Bioquímicas

Foram realizadas as seguintes medidas bioquímicas:

- Concentração de zinco no plasma
- Concentração de zinco no eritrócito
- Hemoglobina eritrocitária
- Concentração de zinco na urina de 24 horas
- Creatinina urinária de 24 horas
- Insulina sérica
- Glicose plasmática
- Leptina sérica
- Concentração das frações lipídicas (colesterol total, triacilglicerol, HDL-C, LDL-C, VLDL-C).

4.5.1. Parâmetros Bioquímicos de Avaliação do Zinco

4.5.1.1. Determinação de Zinco no Plasma

A determinação da concentração de zinco no plasma foi realizada por espectrofotometria de absorção atômica, segundo o método proposto por RODRIGUEZ *et al.* (1989).

Duas alíquotas de cada amostra de plasma foram preparadas, diluindo-se em água Mili-Q® na proporção de 1:4 e aspirada diretamente na chama do aparelho.

Realizou-se a leitura em espectrofotômetro de absorção atômica marca PERKIN ELMER, modelo 5000, equipado com lâmpada de cátodo oco, calibrado nas seguintes condições de trabalho: comprimento de onda

213,9 nm, fenda 0,7nm, chama oxidante com mistura de acetileno (25): ar (40), e três leituras com tempo de integração de 3 segundos.

Como padrão foi utilizado o Tritizol[®] (MERCK), preparado por diluição em água Mili-Q[®] com glicerol a 3%, nas concentrações de 0,1; 0,2; 0,3; 0,5 e 1,0 µg/mL.

Os resultados calculados a partir das absorbâncias obtidas foram expressos em µg/dL, representando a média das concentrações das amostras preparadas em duplicatas.

4.5.1.2. Determinação de Zinco no Eritrócito

A determinação de zinco no eritrócito foi feita por espectrofotometria de absorção atômica (WHITEHOUSE *et al.*, 1982) seguindo a padronização de metodologia feita por CORDEIRO (1994), na qual se constatou um nível de precisão desejável nas análises e não interferências de matriz neste tipo de material biológico.

Uma alíquota de 300 µL de massa de eritrócito foi diluída 40 vezes em água MILLI-Q[®]. Esta diluição foi feita em duas etapas chamadas *lisado 1* e *2*, correspondentes respectivamente, a uma primeira diluição da alíquota de 300 µL na proporção de 1:4; e a uma segunda diluição na qual foram pipetados em triplicata 200 µL do *lisado 1* e diluídos novamente na proporção de 1:10. Após homogeneização, as amostras de *lisado 2* foram aspiradas diretamente no espectrofotômetro de absorção atômica.

Utilizou-se o mesmo equipamento e as mesmas condições descritas no item 4.6.1.1 para determinação da concentração de zinco.

Foi utilizado o Tritisol[®] (MERCK) como padrão, preparado por diluição em água deionizada nas concentrações de 0,1; 0,2; 0,3; 0,5 e 1,0 µg/mL.

Para expressar os resultados de zinco/massa de hemoglobina foi determinada paralelamente a concentração de hemoglobina no *lisado 1*, e

feitos os ajustes das diluições no cálculo final das análises. Uma alíquota de 20 μL deste *lisado* foi diluída em 5 mL de solução de Drabkin para determinação pelo método da cianometahemoglobina (VAN ASSENDELFT, 1972).

O equipamento utilizado para leitura da hemoglobina foi um espectrofotômetro UV visível (HITACHI, Modelo U1100) em 540 nm. Os resultados foram expressos em $\mu\text{g/g}$ Hb.

4.5.1.3. Determinação de Zinco na Urina

A determinação da concentração de zinco na urina foi realizada por espectrofotometria de absorção atômica (KILERICH *et al.*, 1980).

Três alíquotas de cada amostra de urina foram diluídas em água Milli-Q[®] na proporção de 1:2, homogeneizadas e aspiradas diretamente na chama do aparelho.

A determinação da concentração de zinco foi feita utilizando-se o mesmo equipamento e condições descritas no item 4.5.1.1. Como padrão foi utilizado o Tritisol[®] (MERCK), preparado por diluição em água Milli-Q[®] nas concentrações de 0,1; 0,2; 0,3; 0,5 e 1,0 $\mu\text{g/mL}$.

Os resultados foram calculados em $\mu\text{g Zn/mL}$ de urina e transformados em $\mu\text{g Zn/24h}$ considerando o volume urinário de 24h.

4.5.2. Determinação da Creatinina Urinária

A determinação de creatinina foi realizada pelo método do ponto final, pela técnica da LABTEST. A urina foi diluída em 1:25 em água destilada, sendo realizado triplicatas de cada amostra. Foram adicionadas à 250 μL da urina diluída 2 mL de tampão de hidróxido de sódio com tetraborato de

sódio, e 500 µL de ácido pícrico. Foram colocados em banho-maria a 37°C por 10 minutos, e, em seguida determinada as absorbâncias em 510nm. O equipamento utilizado para leitura foi um espectrofotômetro UV visível (HITACHI, modelo U1100). Depois desta leitura foram adicionados 100 µL de acidificante (ácido acético 11,7 mol/L), deixados a temperatura ambiente por 5 minutos e determinadas as absorbâncias em 510 nm.

4.5.3. Análise de colesterol total, triacilglicerol, VLDL-C, HDL-C

A determinação do perfil lipídico foi realizada no Laboratório Central do Hospital das Clínicas da FM/USP. O soro foi separado do sangue total por centrifugação a 3000 x g durante 10 minutos a 37° C, extraído com pipeta automática. Realizou-se a leitura do colesterol total, triacilglicerol, VLDL-C e HDL-C em espectrofotômetro UV visível (HITACHI, Modelo U 3210) em 500 nm.

O valor do LDL-C foi calculado utilizando a fórmula de FRIEDEWALD *et al.* (1972), sendo válida para triacilgliceróis com valor até 400 mg/dL.

$$\text{LDL-C} = \text{CT} - (\text{HDL-C} + \text{TG}/5)$$

4.5.4. Caracterização da resistência insulínica

4.5.4.1. Índice HOMA

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

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

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

4.5.4.1.1. Determinação da insulina

A concentração sérica de insulina foi determinada no Laboratório de Endocrinologia do Hospital das Clínicas da UNICAMP, pelo método de radioimunoensaio, utilizando o *kit* de reagente LINCO Research, Inc.

4.5.4.1.2. Determinação da glicose

A concentração plasmática de glicose foi determinada em analisador automático, modelo Cobas Integra da Roche, pelo método enzimático hexoquinase. O intervalo de referência considerado para os valores normais de glicemia foi de 70 a 110 mg/dL.

A determinação da glicose plasmática foi realizada no Laboratório Central do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

4.5.5. Teste oral de tolerância à glicose (TTGO)

O teste oral de tolerância à glicose é um método utilizado para identificar pacientes com resistência à insulina, quando as concentrações normais de glicose estão associadas com hiperinsulinemias, como ocorre na obesidade (WAJCHENBERG *et al.*, 1999).

Após jejum de 12 horas foi realizado o TTGO com 75g de glicose. O sangue foi coletado para a determinação das concentrações da glicose nos tempos 0 e 120min para excluir os pacientes que apresentavam intolerância à glicose e *diabetes mellitus* tipo 2.

Classificação quanto ao TTGO:

Tempo 120min - < 140 - Normal

140 a 200 - Intolerante à glicose

> 200 - Diabético

4.5.6. Determinação da leptina

A concentração sérica de leptina foi determinada no Laboratório de Endocrinologia do Hospital das Clínicas da UNICAMP, pelo método de radioimunoensaio, utilizando o *kit* de reagente LINCO Research, inc.

4.7. Avaliação estatística

Primeiramente foi realizada uma análise descritiva das variáveis observadas nos grupos que participaram do estudo;

As medidas das variáveis foram analisadas pelos seguintes testes:

✓ Teste de Mann-Whitney: teste não paramétrico utilizado para avaliar diferenças entre as medianas (NOETHER, 1983).

✓ Teste t-Student: teste paramétrico utilizado para verificar a hipótese de igualdade das medianas (BUSSAB & MORETTIN, 1987), e estes resultados foram confrontados com o teste de Mann-Whitney. Pressupõe-se que existe diferença significativa quando os dois testes apresentam resultados compatíveis entre si.

✓ Teste de Bartlett: utilizado para verificar igualdade das variâncias dos grupos comparados assumindo a suposição de normalidade dos dados.

✓ Teste de Levene: foi aplicado considerando a distribuição contínua dos dados (NETER, 1996).

Foram elaborados diagramas de dispersão e calculados os respectivos coeficientes de correlação linear de Pearson, para verificar a existência de associação entre pares de variáveis clínicas

Os dados foram trabalhados nos programas estatísticos S-PLUS V. 3.2 Release, no Minitab for Windows Release 11.0 e no SPSS for Windows 9.0.

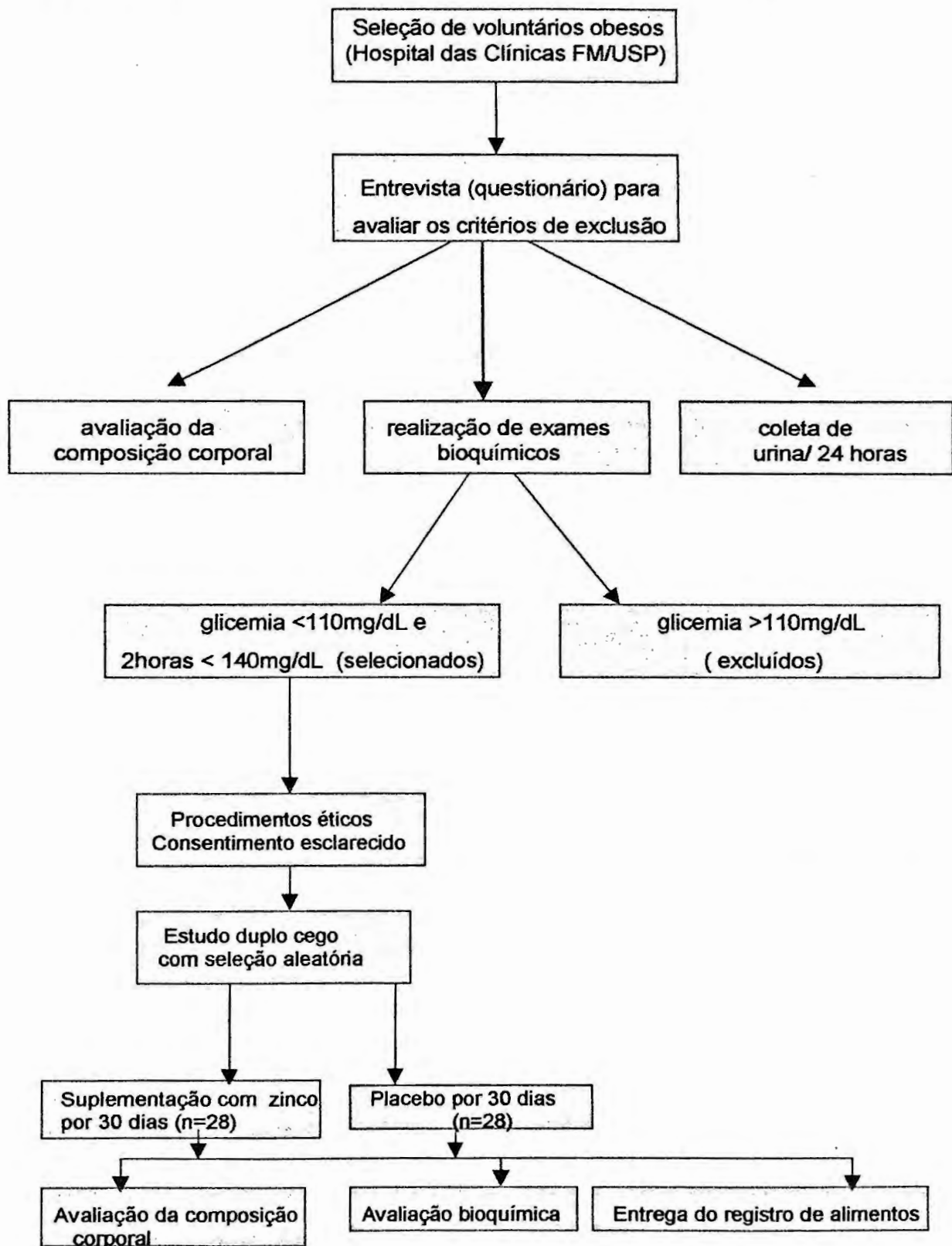
Os resultados estão apresentados como mediana devido a variabilidade das medidas clínicas, mostrando-se os intervalos mínimo e máximo e nível descritivo obtido no caso das diferenças significativas pelo teste de Mann-Whitney e teste t-Student.

Para compararmos os grupos quanto ao estado nutricional relativo ao zinco, e a resistência insulínica, foram realizados testes-T, de igualdade de

médias, e elaborada uma ANOVA – análise de variância com medidas repetidas no tempo.

Para verificar a existência de associação linear entre as variáveis clínicas e o zinco, foram elaborados diagramas de dispersão e calculados os respectivos coeficientes de correlação linear de Pearson .

FIGURA 5. Fluxograma das atividades desenvolvidas durante a pesquisa.



5.0 - Resultados

5.0 RESULTADOS

5.1 Características dos Participantes do Estudo

O estudo foi realizado com 56 pacientes obesas selecionadas segundo os critérios definidos pelo estudo, sendo que 28 destas foram suplementadas com zinco e 28 receberam placebo, em estudo duplo cego. A mediana de idade, peso e altura das pacientes nas fases de pré e pós intervenção encontra-se na **Tabela 1**. Pode-se verificar que houve uma distribuição homogênea entre os dois grupos.

TABELA 1. Características das pacientes obesas suplementadas com zinco e do grupo placebo nas fases de pré e pós intervenção.

Parâmetros	Grupo zinco (n=28)		Grupo placebo (n=28)	
	Pré	Pós	Pré	Pós
Idade	36,0	36,0	34,5	34,5
(anos)	(25,0–45,0)	(25,0–45,0)	(25,0–43,0)	(25,0–43,0)
Peso	90,3	91,1	92,1	91,8
(kg)	(77,0-123,4)	(76,0-123,0)	(77,7-110,5)	(76,5-111,1)
Altura	160,0	159,5	159,0	159,0
(cm)	(150,0-179,0)	(150,0-179,0)	(148,5-168,0)	(148,0-168,0)

não houve diferença estatística significativa entre os grupos, Teste t-Student e Teste de Mann-Whitney ($p > 0,05$)

5.2. Estado Nutricional dos Participantes do Estudo

5.2.1. Antropometria e Impedância Bioelétrica

Os resultados da avaliação nutricional das pacientes obesas realizada por meio dos parâmetros antropométricos como o índice de massa corpórea (IMC), dobras cutâneas, circunferência da cintura, razão cintura/quadril e a bioimpedância encontram-se na **Tabela 2**.

TABELA 2. Parâmetros antropométricos e de biomedância das pacientes obesas suplementadas com zinco e do grupo placebo nas fases de pré e pós intervenção.

Parâmetros	Grupo zinco (n=28)		Grupo placebo (n=28)	
	Pré	Pós	Pré	Pós
IMC [kg/(m ²)]	35,8 ± 2,2	35,6 ± 2,4	36,5 ± 2,5	36,4 ± 2,5
CC (cm)	107,2 ± 5,3	106,3 ± 6,2	107,6 ± 8,4	107,8 ± 8,5
Razão C/Q	0,90 ± 0,05	0,89 ± 0,5	0,90 ± 0,04	0,90 ± 0,05
DCT (mm)	32,5 ± 3,9	32,3 ± 3,7	33,3 ± 4,5	32,6 ± 3,4
DCSes (mm)	39,5 ± 5,1	39,7 ± 5,6	40,0 ± 5,3	39,8 ± 5,3
DCSil (mm)	39,5 ± 4,2	39,8 ± 4,1	39,7 ± 5,2	39,3 ± 5,1
DCBicp(mm)	29,8 ± 3,3,	29,5 ± 3,9	29,4 ± 4,8	29,7 ± 4,7
Σ de dobras cutâneas	141,2 ± 10,8	141,4 ± 11,2	142,4 ± 12,4	141,4 ± 10,7
GC (%)	39,6 ± 5,3	39,3 ± 2,9	39,5 ± 3,1	40,0 ± 2,7

IMC = índice de massa corpórea; CC= circunferência da cintura; Razão C/Q= Razão cintura quadril; DCT= dobra cutânea tricípital; DCSes= dobra cutânea subescapular; DCSil= dobra cutânea suprailíaca; DCBps =dobra cutânea bicípital; %GC= percentual de gordura obtido pela bioimpedância; Σ = somatória. não houve diferença estatística significativa entre os grupos, Teste t-Student e Teste de Mann-Whitney (p>0,05)

5.3. Parâmetros Bioquímicos Gerais

5.3.1. Perfil lipídico do grupo suplementado e do grupo placebo nas fases de pré e pós intervenção

TABELA 3. Perfil lipídico das pacientes obesas suplementadas com zinco e do grupo placebo nas fases de pré e pós intervenção.

Parâmetros	Grupo zinco (n=28)		Grupo placebo (n=28)	
	Pré	Pós	Pré	Pós
TG (mg/dL)	123,1 ± 57,3	121,2 ± 51,8	122,5 ± 68,6	119,1 ± 59,9
CT (mg/dL)	197,8 ± 27,7	192,6 ± 38,1	181,5 ± 42,6	184,1 ± 40,0
VLDL-C (mg/dL)	24,6 ± 11,6	23,6 ± 10,9	23,4 ± 13,0	23,7 ± 11,9
LDL-C (mg/dL)	129,4 ± 24,4	124,3 ± 34,9	117,6 ± 33,6	117,7 ± 34,4
HDL-C (mg/dL)	43,9 ± 8,9	44,1 ± 10,8	45,1 ± 12,1	42,7 ± 13,0

TG= triacilglicerol, CT- colesterol total, VLDL-C= colesterol de lipoproteína de muito baixa densidade; LDL-C= colesterol de lipoproteína de baixa densidade; HDL-C= colesterol de lipoproteína de alta densidade. Não houve diferença estatística significativa entre os grupos, Teste t-Student e Teste de Mann-Whitney ($p>0,05$)

Comparou-se os valores obtidos neste estudo com as recomendações do III Consenso Brasileiro sobre Dislipidemias, (2001). Observou-se que as pacientes obesas participantes do estudo apresentaram valores dentro da média dos padrões recomendados.

A aplicação do teste estatístico de Mann-Whitney mostra que não houve diferença significativa ($p>0,05$) em relação ao perfil lipídico do grupo suplementado, quando comparado ao grupo placebo, na fase inicial e final do estudo.

5. 4. Avaliação do Consumo Alimentar

Os resultados da análise das dietas consumidas pelas pacientes estudadas são apresentados na **Tabela 4**. Verifica-se que não houve diferença estatística significativa ($p > 0,05$) em relação a ingestão de proteína, carboidrato e lipídeo entre os dois grupos.

TABELA 4. Comparação da energia e dos nutrientes presentes na alimentação das pacientes obesas suplementadas com zinco e do grupo placebo.

Energia/ Nutrientes	Grupo zinco (n=28)	Grupo placebo (n=28)	p*
Energia (kcal)	1942,4 ± 412,6	1837,7 ± 502,7	Ns
Proteína (%)	19,5 ± 4,6	19,4 ± 4,6	Ns
Carboidrato (%)	48,0 ± 7,5	47,2 ± 5,0	Ns
Lipídeo (%)	32,5 ± 5,8	33,4 ± 4,4	Ns
Zinco (mg/dia)	10,2 ± 4,1	10,6 ± 4,5	Ns

= não significativo;

* Teste t-Student e Teste de Mann-Whitney ($p > 0,05$)

A **Tabela 5**, mostra a comparação da ingestão de macronutrientes das pacientes obesas suplementadas e do grupo placebo avaliadas segundo com a Recommended Dietary Allowance (RDA), (1989).

TABELA 5. Comparação da ingestão de macronutrientes das pacientes obesas suplementadas com zinco e do grupo placebo, avaliadas segundo a RDA, (1989).

Nutrientes	RDA (mulheres)	Grupo Zinco (consumo)	Grupo Placebo (consumo)
Energia(kcal)	2200	1942	1838
Proteína (% VET)	10 – 15	19,5	19,0
Carboidrato (%VET)	50 – 60	48,0	47,2
Lipídeo (% VET)	25 – 30	32,5	33,4

VET= Valor energético total da dieta

5.5. Parâmetros Bioquímicos de Avaliação do Zinco

5.5.1. Zinco Plasmático

Na **Tabela 6**, encontram-se os resultados obtidos das concentrações de zinco no plasma e nos eritrócitos das pacientes obesas do grupo suplementado e do grupo placebo nas fases de pré e pós intervenção. Em relação aos resultados das concentrações de zinco plasmático, verifica-se que as pacientes obesas suplementadas com zinco tiveram um modesto aumento deste índice em relação aos valores iniciais, sendo que este não foi estatisticamente significativo ($p > 0,05$).

TABELA 6. Mediana das concentração de zinco no plasma e no eritrócito das pacientes obesas do grupo suplementado e do grupo placebo nas fases de pré e pós intervenção.

Parâmetros	Grupo zinco (n=28)		Grupo placebo (n=28)	
	Pré	Pós	Pré	Pós
Zinco – plasma($\mu\text{g/dL}$)	77,0 (55,8 – 92,7)	84,7 (56,8 – 106,9)	76,5 (53,6 – 97,2)	79,2 (46,8 – 97,1)
Zinco no eritrócito ($\mu\text{g Zn/mL}$)	11,2 (8,2 – 15,8)	12,2 (8,4 – 14,5)	11,7 (8,2 – 14,0)	11,4 (7,7 – 13,9)
Zinco – eritrócito ($\mu\text{g Zn/gHb}$)	38,3 (26,3 - 54,6)	41,0 (26,5- 48,4)	37,8 (25,4 - 48,3)	38,8 (26,7-52,7)

não houve diferença estatística significativa entre os grupos;

Teste t-Student e Teste de Mann – Whitney ($p > 0,05$)

Valores Normais: Plasma: 75 - 110 $\mu\text{g/dL}$ (GIBSON, 1990; IYENGAR, 1988)

Valores Normais: Eritrócito: 40 - 44 $\mu\text{g Zn/gHb}$ (GUTHRIE & PICCIANO, 1994)

10 - 14 $\mu\text{g Zn/mL}$ Eritrócito (BRODY, 1994)

A **Figura 6** mostra as medianas das concentrações de zinco no plasma das pacientes obesas suplementadas com zinco e do grupo placebo, nas fases de pré e pós intervenção.

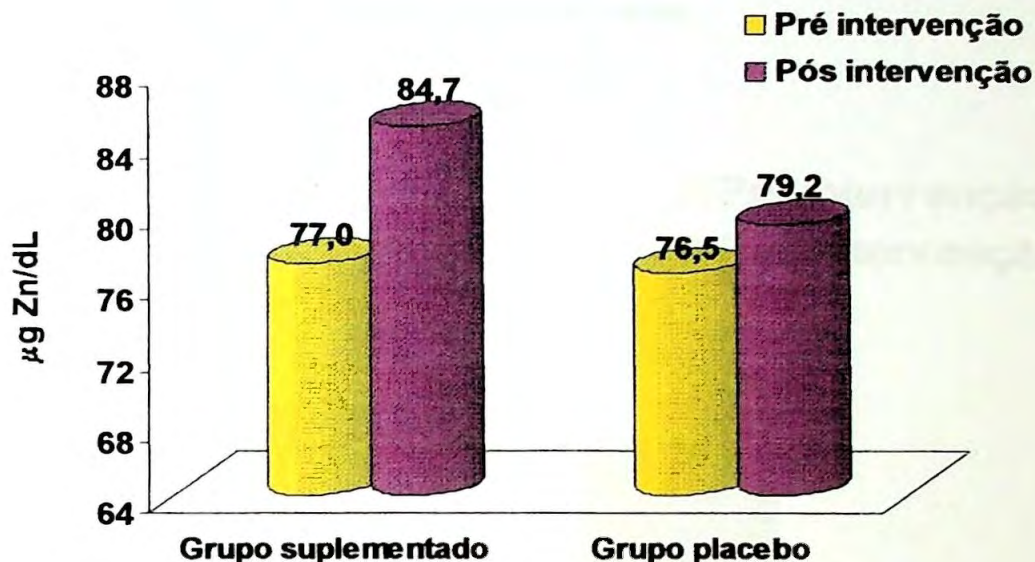


Figura 6. Valores medianos das concentrações de zinco verificados no plasma das pacientes obesas suplementadas com zinco e do grupo placebo, nas fases de pré e pós intervenção.

Valores normais: Zinco no plasma-70 -110µg/dL (GIBSON, 1990)

Teste t-Student: ($p > 0,05$)

5.5.2. Concentração de Zinco no Eritrócito

Na **Tabela 6** e **Figura 7**, observamos que o conteúdo de zinco no eritrócito também apresentou comportamento semelhante ao obtido para a concentração de zinco plasmático, verifica-se que o grupo suplementado apresentou uma concentração de zinco no eritrócito mais elevada do que no grupo placebo na fase pós intervenção, sendo que este aumento não foi

estatisticamente significativo ($p > 0,05$). A mediana das concentrações de zinco encontrada para o grupo suplementado, foi de 38,3 $\mu\text{g/gHb}$ na fase pré intervenção e 41,0 $\mu\text{g/gHb}$ na fase pós intervenção, enquanto que o grupo placebo apresentou valores medianos de 37,8 $\mu\text{g/gHb}$ e 38,8 $\mu\text{g/gHb}$ nas fases de pré e pós intervenção, respectivamente.

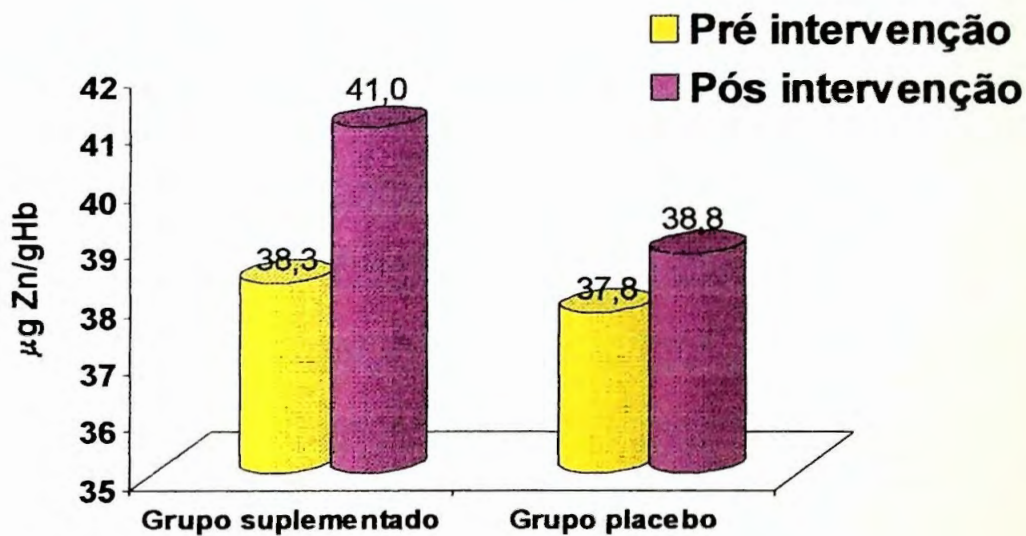


Figura 7. Valores medianos das concentrações de zinco verificados nos eritrócitos das pacientes obesas suplementadas com zinco e do grupo placebo, nas fases de pré e pós intervenção.

Valores normais: Zn no eritrócito- 40 - 44 $\mu\text{g Zn/gHb}$ (GUTHRIE & PICCIANO, 1994)
Teste t-Student: ($p > 0,05$)

5.0 - Resultados

5.5.3. Concentração de Zinco na Urina

Na Tabela 7 e Figura 8, encontram-se os resultados das determinações de zinco na urina. Pode-se observar que os dois grupos apresentaram valores deste parâmetro dentro dos padrões de normalidade na fase inicial do estudo. Após a suplementação, o grupo suplementado apresentou um aumento na concentração de zinco na urina superior ao valor inicial, com diferença estatística significativa ($p < 0,05$). Enquanto que o grupo placebo, considerando as fases de pré e pós intervenção, apresentou uma leve diminuição em relação aos valores iniciais, sem diferença estatística significativa ($p > 0,05$).

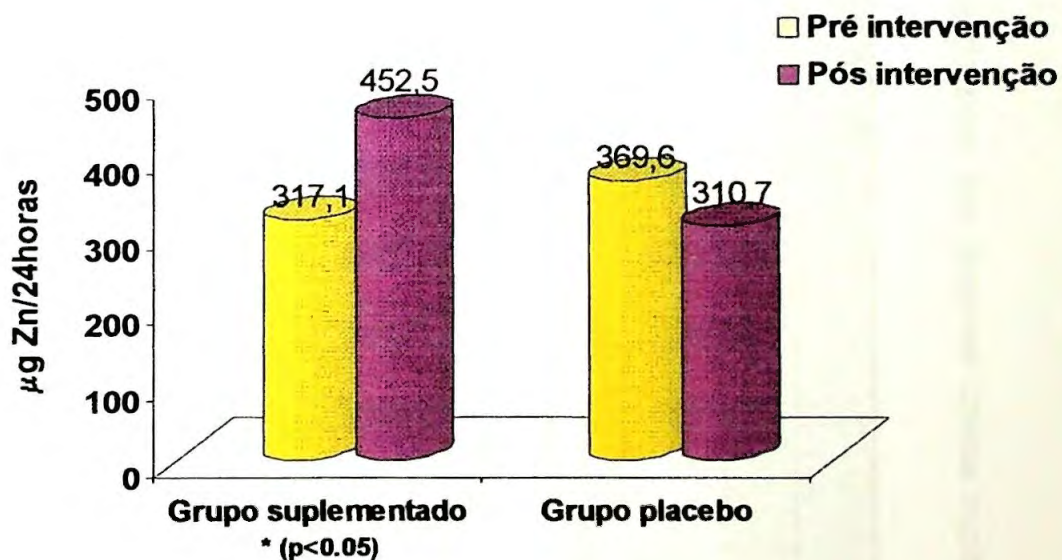


Figura 8. Valores medianos das concentrações de zinco encontrados na urina das pacientes obesas suplementadas com zinco e do grupo placebo, nas fases de pré e pós intervenção.

Valores normais: Zinco urinário- 300 - 600µg Zn /24horas (GIBSON, 1990)

* Significativo: Teste t-Student

TABELA 7. Volume urinário e excreção urinária de zinco das pacientes obesas suplementadas com zinco e do grupo placebo.

Parâmetros	Grupo zinco (n=28)			Grupo placebo (n=28)		
	pré	pós	p*	pré	pós	p*
Volume urinário (mL/24h)	935,8 (473,5 - 2393,1)	1203,5 (417,2-2410,0)	Ns	1333,4 (728,5-2267,0)	1128,4 (423,6-2457,8)	ns
Excreção urinária Zn ($\mu\text{gZn}/24\text{h}$)	317,1 (69,3 - 903,7)	452,5 (167,5 - 951,2)	<0,05 ^a	369,6 (95,1 - 1407,5)	310,7 (110,6-909,2)	ns
Excreção urinária de Zn ($\mu\text{mol Zn}/\text{mmol}$ de creatinina urinária)	2,38 (0,98 - 5,00)	2,50 (1,00 - 4,95)	Ns	2,01 (0,87 -4,28)	2,13 (0,52 -4,90)	ns

* significativo;

ns=não significativo;

*Teste t-Student e Teste de Mann-Whitney

Valores Normais: Zinco na Urina: 300 – 600 $\mu\text{g Zn}/24\text{h}$ (GIBSON, 1990)

Uma análise sobre a provável correlação com os principais elementos existentes entre a ingestão de zinco alimentar, leptina, perfil lipídico, insulina, composição corporal e os parâmetros sanguíneos e urinário utilizados na determinação do zinco foi conduzida, e não se conseguiu observar qualquer correlação estatística significativa entre as mesmas. Os valores obtidos dessas análises, estão apresentados nos **Anexos 8 e 9**.

5.6. Determinação de insulina, glicose e leptina

A **Tabela 8** expressa os resultados da análise de insulina, glicose e leptina das pacientes obesas suplementadas com zinco e do grupo placebo nas fases de pré e pós intervenção.

Não houve diferença estatística significativa entre os dois grupos tanto na fase de pré intervenção quanto na fase de pós intervenção ($p > 0,05$) em relação a glicose plasmática.

A concentração de leptina sérica, foi semelhante ao resultado obtido para a glicose plasmática, observando-se que também não houve diferença estatística significativa entre aos dois grupos ($p > 0,05$) e que ambos se encontravam acima do padrão de normalidade antes da suplementação, conforme mostra a **Tabela 8**.

TABELA 8. Valores medianos das concentrações de insulina, leptina e glicose de jejum das pacientes obesas do grupo suplementado com zinco e do grupo placebo nas fases de pré e pós intervenção.

Parâmetros	Grupo zinco (n=28)			Grupo placebo (n=28)		
	Pré	Pós	p ^a	Pré	Pós	p ^a
Insulina (μ U/mL)	26,5 (9,0 – 69,0)	20,5 (8,0 – 41,0)	<0,05 ^a	22,0 (5,9 – 50,0)	18,5 (3,4 – 56,0)	ns
Glicose (mg/dL)	83,0 (64,0 – 100,0)	80,0 (66,0 – 109,0)	Ns	81,2 (65,0 – 106,0)	79,0 (64,0 – 109,0)	ns
Leptina (μ g/L)	21,0 (4,7 – 54,0)	29,0 (2,7 – 62,0)	Ns	25,0 (5,2 – 62,0)	31,0 (2,7 – 51,0)	ns

ns=não significativo;

^asignificativo;

*Teste t-Student e Teste de Mann-Whitney

Valores Normais: Insulina: 5 – 15 μ U/mL (MORGAN & LAZAROW, 1963)

Leptina: 2,0 – 5,6 μ g/L - Homens

1,7 – 11,1 μ g/L – Mulheres (MA *et al.*, 1996)

6.0 - Discussão

Em relação aos resultados das concentrações de insulina sérica, verifica-se que os dois grupos apresentaram valores deste parâmetro acima da faixa de normalidade. Após a intervenção, o grupo suplementado teve uma redução na concentração da insulina, com diferença estatística significativa em relação aos valores iniciais ($p < 0,05$) conforme mostra a **Tabela 8** e **Figura 9**. Já o grupo placebo não apresentou diferença estatisticamente significativa ($p > 0,05$).

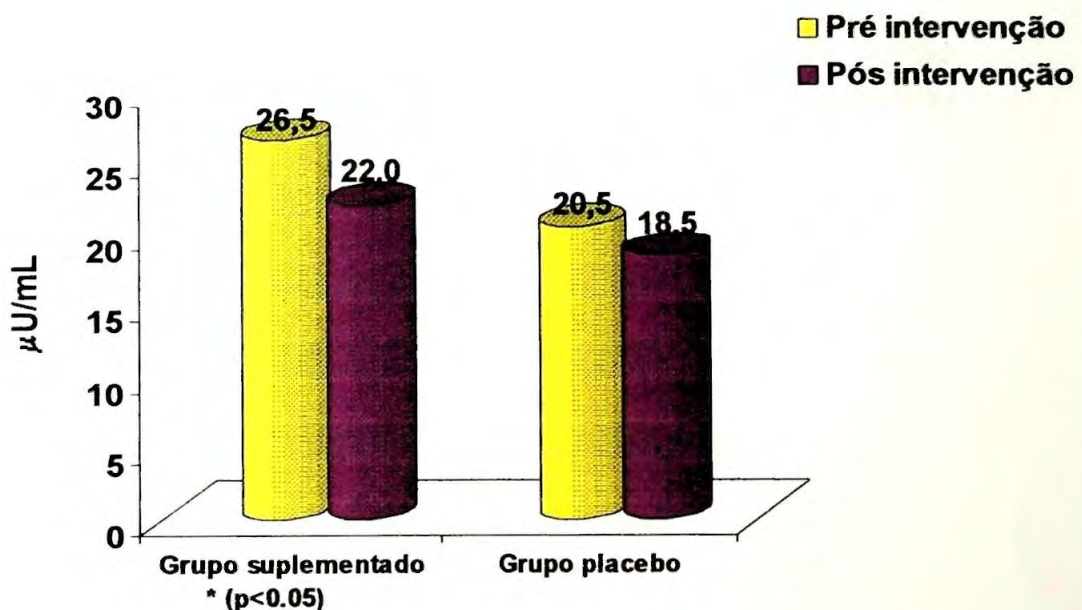


Figura 9. Valores medianos das concentrações de insulina das pacientes obesas suplementadas com zinco e do grupo placebo, nas fases de pré e pós intervenção.

Valores normais: Insulina: 5 – 15 µU/mL (MORGAN & LAZAROW, 1963)

* Significativo: Teste t-Student

5.7. Índice HOMA ir

Na **Figura 10** estão apresentados os resultados da avaliação da resistência à insulina por meio do índice HOMA ir. A aplicação do teste estatístico de Mann-Whitney mostra que após a intervenção, o grupo suplementado apresentou uma redução deste índice com diferença estatística significativa em relação ao grupo placebo ($p < 0,05$).

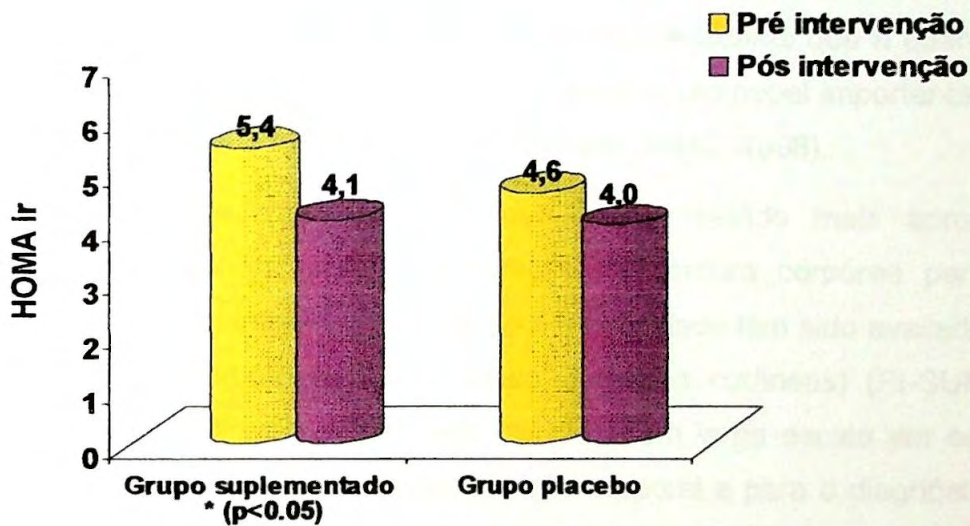


Figura 10. Valores médios encontrados do índice HOMA ir para o grupo suplementado e grupo placebo, nas fases de pré e pós intervenção.

* Significativo: Teste t-Student

6.0 DISCUSSÃO

6.1 Avaliação da Composição Corporal

A obesidade freqüentemente é definida como uma doença na qual o excesso de gordura no tecido adiposo se acumula em uma extensão onde a saúde pode ser afetada. Contudo, o grau do excesso de gordura estocado, a distribuição regional de gordura no corpo e as conseqüências associadas à saúde, variam consideravelmente entre os indivíduos. Dessa forma, a distribuição da gordura corporal, de forma mais marcante que a quantidade total de gordura presente no organismo, assume um papel importante como fator de risco para a manifestação de doenças (WHO, 1998).

Até o presente momento, não existe método mais apropriado facilmente disponível para determinação da gordura corpórea para uso clínico. Tradicionalmente, o sobrepeso e a obesidade têm sido avaliados por medidas antropométricas (peso, altura e dobras cutâneas) (PI-SUNYER, 2000). Esses indicadores têm sido utilizados em larga escala em estudos populacionais, para estimar a composição corporal e para o diagnóstico da obesidade, por serem não invasivos, de fácil execução, e de baixo custo, quando comparados com os parâmetros bioquímicos e clínicos.

O Índice de Massa Corpórea (IMC) é descrito por vários autores como sendo o indicador mais útil e adequado para definição da obesidade em nível populacional (WHO, 1998). Nos estudos de ZUMOFF *et al.* (1990) e GALLAGHER *et al.* (1996) foi verificada uma correlação significativa, entre o IMC e a percentagem de gordura do corpo. O IMC tem se correlacionado com o aumento da morbidade e mortalidade em numerosos estudos populacionais (PI-SUNYER, 2000).

Tendo em vista as limitações do método supra citado, assim como de qualquer outro critério que leve em consideração peso, altura e idade para o diagnóstico de obesidade, foram realizadas as medidas das circunferências e dobras cutâneas. Estas medidas fazem parte de uma avaliação mais

específica de adiposidade, que também avaliam a distribuição da gordura corporal (WHO, 1995).

As mulheres obesas participantes do nosso estudo apresentaram valores da circunferência da cintura e razão cintura/quadril, superiores aos considerados fator de risco, conforme já mencionado.

O acúmulo de tecido adiposo intrabdominal, tem sido associado com maior risco de resistência à insulina, *diabetes mellitus* tipo 2, hipertensão arterial, dislipidemias e doenças cardiovasculares (ABATE *et al.*, 1995; KAHN *et al.*, 2001). A circunferência da cintura e a RC/Q são bastante utilizados como indicadores da obesidade abdominal em estudos populacionais.

Segundo PI-SUNYER, (2000) a distribuição de gordura está mais relacionada aos fatores de risco cardiovasculares do que a quantidade total de gordura do corpo.

A circunferência da cintura é atualmente considerada a medida que melhor reflete o acúmulo de gordura intraabdominal do que a RC/Q (LEMIEUY *et al.*, 1996; SEIDELL & MOLARIUS, 1998; SEIDELL, 2001). Observou-se que valores da circunferência da cintura maiores que 102 cm para homens e 88 cm para mulheres (WHO, 1997), representavam maior probabilidade para o desenvolvimento de resistência à insulina, *diabetes mellitus* tipo 2 e doenças cardiovasculares (PI-SUNYER, 2000).

De acordo com SEIDELL *et al.* (2001) as medida das circunferência da cintura e a RC/Q, podem ser utilizadas para medir diferentes aspectos da composição e da distribuição da gordura corporal. Estas medidas possuem efeitos independentes e freqüentemente opostos para determinar os fatores de risco para doenças cardiovasculares.

As variações na circunferência da cintura refletem principalmente variação da gordura visceral e subcutânea, e o aumento da liberação dos ácidos graxos livres, resultante do aumento da circunferência da cintura, está relacionado com os fatores de risco. Já a circunferência do quadril reflete variação na estrutura óssea (largura da pélvica), músculo glúteo e

gordura glútea subcutânea. Dessa forma, o quadril estreito pode refletir menor massa muscular periférica, o que contribui para uma reduzida *clearance* de insulina do músculo e menor atividade da lipase de lipoproteína com concomitante redução da capacidade do músculo para utilizar os ácidos graxos. Por outro lado, o efeito protetor da circunferência do quadril mais larga, poderia ser devido ao aumento da atividade da lipase de lipoproteína e do menor *turnover* dos ácidos graxos do tecido adiposo gluteofemural (SEIDELL *et al.*, 2001).

SEIDELL *et al.* (2001) observaram que a circunferência da cintura mais larga e a menor circunferência do quadril são medidas independentes (e com efeitos opostos) relacionadas aos fatores de risco tais como: baixa concentrações de HDL colesterol, e alta de triacilglicerol e de insulina. Segundo estes autores, os efeitos independentes destas duas medidas são confundidos na razão cintura/quadril.

A dislipidemia é uma característica comum da resistência à insulina. Estudos já realizados demonstraram relação entre esta alteração metabólica e o zinco. Portanto, em nosso estudo, estas variáveis também foram determinadas, assim como as prováveis relações existentes entre as mesmas.

De acordo com os nossos resultados, houve semelhança entre os dois grupos estudados em relação as frações lipídicas, tanto na fase inicial, quanto na fase final do estudo. É interessante ressaltar, que embora as pacientes de ambos os grupos atendem à recomendação do III Consenso Brasileiro sobre Dislipidemias (2001), os valores obtidos de todas as frações para os dois grupos, estavam próximo do limite desejável.

Os primeiros relatos da literatura de que o zinco exerce um papel importante no metabolismo das lipoproteínas, foram feitos por KLEVAY em 1973 e 1975. Este autor sugeriu que o aumento da relação zinco e cobre na dieta, poderia favorecer o aumento da concentração do colesterol no plasma, o que contribuiria para a manifestação da aterosclerose. Posteriormente HOOPER *et al.* (1980); GOODWING *et al.* (1985); BLACK *et*

al. (1988), verificaram que a suplementação com zinco reduzia a concentração do HDL-C.

Por outro lado, LAITINEN *et al.* (1980) e LÓPEZ *et al.* (1997) avaliando a relação entre zinco e HDL-C em indivíduos obesos, encontraram correlação positiva entre estas variáveis. Em 1985, PACHOTIKARN *et al.* não conseguiram verificar qualquer efeito da suplementação deste mineral sobre a HDL-C. Verifica-se portanto, que existe bastante controvérsia nos resultados da maioria dos estudos realizados.

Em nossa investigação, não se verificou correlação estatística significativa entre estes parâmetros ($p < 0,05$). Este resultado está de acordo com os já encontrados, entre outros, por FISCHER & COLLINS (1981) que avaliando a relação entre zinco, cobre e fatores de risco associados com doenças cardiovasculares (colesterol total, TG, HDL-C e LDL-C, pressão sangüínea e exercício), também não verificaram correlação significativa entre estas variáveis.

Deve-se ressaltar que na maioria dos estudos já realizados, a ingestão de zinco foi extremamente elevada ou muito baixa, enquanto que em trabalhos com indivíduos ingerindo quantidades normais deste mineral, não foi observada relação entre estas variáveis. Provavelmente, a dose utilizada em nosso estudo, também não tenha sido suficiente para promover tal efeito. Além disso, é oportuno ressaltar que os pacientes estudados não apresentavam dislipidemia.

6.2. Análise e Adequação das Dietas

Os resultados relativos ao valor energético total das dietas, mostram que este foi inferior à recomendação (RDA, 1989) para os dois grupos estudados. A mediana dos valores obtidos variou significativamente entre os grupos. Verificou-se valores extremos de 1209,2 a 2864,3 kcal/dia para as pacientes obesas suplementadas com zinco e para o grupo placebo de

682,4 a 2742,7 kcal/dia, mostrando uma grande variação também entre as pacientes de cada grupo.

A contribuição percentual de lipídeo para o valor energético total encontrada para as pacientes obesas suplementadas com zinco foi de 32,5% e de 33,2% para o grupo placebo. Estes valores ultrapassam aos recomendados pela RDA (1989) de no máximo 30%, tendo em vista as associações da ingestão desse nutriente com o desenvolvimento de doenças cardiovasculares (GOLAY & BOBBIONI, 1997). Dentre as pacientes obesas estudadas, somente 14 (18%) ingeriram as quantidades recomendadas deste nutriente.

A ingestão média de proteína também atingiu valor superior à quantidade recomendada para os dois grupos avaliados, com apenas onze das pacientes apresentando quantidades adequadas.

No que diz respeito ao consumo de carboidratos, o que se verifica é que os dois grupos avaliados ingeriram quantidades mais baixas deste nutriente, constatando-se nas observações individualizadas, que apenas seis pacientes tiveram ingestão deste nutriente dentro da recomendação, correspondendo em termos percentuais a 11%.

Os valores de ingestão de zinco na dieta dos grupos estudados, mostram que não houve diferença estatística significativa em relação ao consumo deste mineral entre os grupos. A média de ingestão diária de zinco foi de 10,2 mg e de 10,6 mg para as pacientes obesas suplementadas com zinco e para o grupo placebo, respectivamente. Estes resultados estão acima dos valores da recomendação recentemente modificada, que é de 8 mg/dia para mulheres e 11 mg/dia para homens saudáveis (FOOD AND NUTRITION BOARD, 2001).

Em nosso estudo, o percentual elevado de pacientes obesas que não atingiram a recomendação para energia, está de acordo com os resultados já encontrados por BRIEFEL *et al.* (1997); BRAAM *et al.* (1998); POPPITT *et al.* (1998); KROKE *et al.* (1999); LISSNER *et al.* (2000), que sugeriram que

os indivíduos obesos possuem uma tendência a subestimar as quantidades de alimentos ingeridos.

De acordo com a RDA (1989), a recomendação de energia para mulheres adultas, na faixa etária de vinte e cinco a quarenta e cinco anos, é de 2200 kcal/dia.

Em 1990, BANDINI *et al.* investigaram a ingestão de energia de indivíduos obesos, por meio do registro alimentar de duas semanas e da determinação do gasto energético total diário, utilizando água duplamente marcada. Observaram uma reduzida ingestão de alimentos, associada a um elevado gasto energético total, sendo este bastante acentuado nos indivíduos obesos que obtiveram maior ganho de peso durante o experimento. Os autores sugeriram que esses indivíduos subestimaram as quantidades de alimentos ingeridos.

Segundo LICHMAN *et al.* (1992) estes indivíduos subestimam a ingestão de alimentos que consomem e superestimam a frequência de atividade física.

No entanto, estudos conduzidos no sentido de verificar a ingestão de energia e de nutrientes entre adolescentes com sobrepeso ou obesos e controles, não observaram diferenças significativas quanto à ingestão de energia nesses grupos (MILLER *et al.*, 1990; ORTEGA *et al.*, 1995).

PRENTICE *et al.* (1996), avaliaram a ingestão de energia de indivíduos adultos com sobrepeso e obesos, por meio da determinação do gasto energético total diário, utilizando água duplamente marcada. Nesse estudo foi verificado um aumento do gasto energético total, sem alterações na ingestão de energia, demonstrando valores subestimados de energia pelos indivíduos obesos quando comparados aos controles.

Recentemente GORIS *et al.* (2000) demonstraram que os indivíduos obesos subestimaram em cerca de 37% a ingestão de energia da dieta.

Estudos têm sido conduzidos visando esclarecer se os valores subestimados de energia da dieta de indivíduos obesos é específica para

determinado macronutriente (HEITMANN & LISSNER, 1995; VOSS *et al.*, 1998; GORIS *et al.*, 2000) .

HEITMANN & LISSNER, (1995) avaliaram os erros no padrão da densidade de macronutrientes em relação a obesidade, por meio de registro alimentar, da excreção de nitrogênio urinário/24h e da determinação do gasto energético total diário. Observaram que os pacientes obesos subestimaram os alimentos ricos em lipídeos e carboidratos e superestimaram a ingestão de proteínas.

Nos estudos de VOSS *et al.* (1998) e GORIS *et al.* (2000) foi demonstrado que os indivíduos obesos subestimaram a ingestão de gordura da dieta. Por outro lado, LISSNER & LINDROOS (1994), investigaram a ingestão de energia de 45 indivíduos obesos e observaram que os indivíduos subestimaram de forma significativa o valor energético total, mais não dos macronutrientes na dieta.

É oportuno assinalar as dificuldades existentes na obtenção de informações sobre a ingestão de alimentos, principalmente em se tratando de indivíduos obesos. As modificações do hábito alimentar habitual, erros no tamanho das porções de alimentos ingeridos, vergonha, entre outros fatores, são problemas que podem alterar o registro de alimentos.

No que diz respeito à composição em macronutrientes das dietas, a **Tabela 4** ilustra a distribuição de ingestão de energia entre proteína, carboidrato e lipídeo das dietas consumidas.

De acordo com a RDA de 1989 a contribuição percentual de energia fornecida pelos macronutrientes é cerca de 10 a 15% para proteína, de 55 a 60% para carboidrato e de até 30% para lipídeo. Desta forma, pode-se observar em nosso estudo, que as dietas de ambos os grupos estudados apresentaram uma alta concentração de lipídeos. Estes resultados estão de acordo com os já divulgados por LARSON *et al.* (1995) e POPPITT, (1995) que investigaram a composição da dieta de indivíduos obesos, e, verificaram, que estes tiveram uma ingestão de gordura maior do que os

controles. Assim como em nosso trabalho, estes autores verificaram que o consumo de carboidrato por esses indivíduos era baixo.

Muitos estudos têm demonstrado uma relação positiva entre a ingestão de gordura da dieta e a obesidade (LISSNER & HEITMMANN, 1995; LICHTENSTEIN *et al.*, 1998).

Existem evidências de que o aumento do consumo de dietas ricas em gordura, aumenta a ingestão total de energia e de que esse nutriente em excesso é armazenado com maior eficiência do que o excesso de carboidrato ou de proteína (HILL *et al.*, 2000). De acordo com esses autores, a redução na termogênese induzida pela dieta rica em gordura, bem como a eficiência com a qual o excesso de gordura é estocada, e a redução na oxidação da gordura, são considerados os mecanismos pelos quais o excesso de gordura contribui para o balanço energético positivo.

Por outro lado, de acordo com WILLETT *et al.* (1998), nos últimos anos houve uma redução do percentual de energia da dieta proveniente da gordura, paralelo ao aumento da prevalência da obesidade, ou seja, houve uma ausência da perda de peso em algumas intervenções em que a gordura da dieta era reduzida, sugerindo que este nutriente não é o fator determinante da obesidade.

Existe uma preocupação unânime dos autores quanto ao consumo excessivo de gordura, tendo em vista a grande contribuição deste nutriente na manutenção da obesidade, bem como na manifestação de doenças cardiovasculares dentre outras (GOLAY & BOBIONI, 1997; LICHTENSTEIN *et al.*, 1998). Nesse sentido, não apenas a ingestão energética total, mas também a composição da dieta, exercem papel importante na prevenção da obesidade.

O elevado percentual de lipídeo verificado na dieta dos participantes do nosso estudo, reforça a inadequação qualitativa do consumo alimentar, que é caracterizado por uma elevada ingestão de alimentos fontes deste nutriente e por um baixo consumo de frutas e vegetais.

Dentre os fatores que contribuem para o perfil alimentar encontrado, podemos destacar o desenvolvimento da indústria de alimentos com a oferta de uma grande variedade de produtos fontes de lipídeo, com alta palatabilidade e elevada densidade calórica.

Com relação ao zinco, dados de consumo desse mineral em dietas de indivíduos obesos são raros, principalmente associados aos parâmetros clínicos e bioquímicos utilizados na sua avaliação.

Nesse estudo foi demonstrada uma ingestão adequada do consumo de zinco (**Tabela 4**), que foi concordante com outros trabalhos (PAYNE & BELTON, 1992).

Por outro lado, CHAMPAGNE *et al.* (1998) verificaram que a ingestão média de zinco reportada pelos indivíduos do sexo feminino, não atingiu 70% da RDA. Enquanto que a média de ingestão deste nutriente, reportada para o sexo masculino, foi de 85%, embora hoje, estes dados já merecessem ser revisados tendo em vista os novos valores de recomendação para este mineral (DRIs, 2000).

Em 1998, ORTEGA *et al.* avaliaram a ingestão de zinco por meio de um inquérito alimentar recordatório e um questionário de frequência de alimentos em obesos, e reportaram ingestão deste mineral de $13,3 \pm 6,7$ mg.

6.3. Avaliação de Zinco no Plasma e Eritrócito

O diagnóstico do estado nutricional relativo ao zinco, ainda é considerado desafiador por muitos pesquisadores, tendo em vista a falta de um método sensível, prático e específico para sua determinação. Sendo assim, a combinação de vários índices tem sido a forma mais indicada para a obtenção de resultados mais precisos (GIBSON, 1990).

Normalmente, o *pool* de zinco é bem regulado, o que favorece a manutenção da homeostase desse mineral no organismo. A determinação da concentração de zinco no plasma, constitui o índice mais utilizado na avaliação do estado nutricional dos indivíduos (GIBSON, 1990).

Neste estudo, as concentrações iniciais de zinco no plasma das pacientes obesas encontravam-se reduzidas nos dois grupos, sem diferença estatística significativa entre eles ($p > 0,05$). Estes resultados foram concordantes com os de outros autores que observaram reduzida concentração de zinco plasmático em indivíduos obesos (CHANDRA & KUTTY, 1980; LOWY *et al.*, 1986; CHEN *et al.*, 1997; PERRONE *et al.*, 1998; MARREIRO, 1999). Os nossos resultados mostram que houve um modesto aumento de zinco plasmático para os dois grupos estudados após a intervenção, particularmente para o grupo suplementado, porém não houve diferença estatística significativa ($p > 0,05$).

Já em 1978 em um estudo conduzido por ATKINSON *et al.* foram demonstradas alterações nos níveis plasmáticos de zinco em indivíduos obesos. Eles estudaram 15 indivíduos obesos e compararam com 52 controles. A concentração de zinco encontrada no plasma dos indivíduos obesos foi significativamente menor (76 $\mu\text{g/dL}$) do que o grupo controle (89 $\mu\text{g/dL}$).

É importante assinalar que o zinco plasmático corresponde a 0,1% do total corpóreo, desta forma, pequenas alterações nos tecidos, como por exemplo no fígado, podem exercer efeitos drásticos sobre esta medida

(KING & KEEN, 1994). Fatores como estresse, infecção, catabolismo, hormônios e alimentação estão envolvidos nestas oscilações (GIBSON, 1990).

Na presente investigação, apesar da ingestão de zinco pelas pacientes obesas se encontrar adequada, a concentração deste mineral no plasma estava reduzida. As dietas apresentaram uma elevada quantidade de alimentos de origem animal, principalmente carnes, que são boas fontes de zinco. Associado a isso, houve um baixo consumo de alimentos ricos em fitato, como cereais integrais e leguminosas. Vale ressaltar que estes compostos são conhecidos pela sua capacidade de quelar vários minerais, entre eles o zinco, alterando a sua biodisponibilidade. Sendo assim, a redução deste mineral no plasma das pacientes obesas, não estaria associada à fatores da dieta.

Existem poucos trabalhos que avaliaram a concentração de zinco nos eritrócitos de indivíduos obesos, e neste estudo pode-se observar que a concentração inicial de zinco eritrocitário encontrava-se inferior aos valores de referência ($40\mu\text{g/gHb}$) nos dois grupos estudados, e que não houve diferença estatística significativa entre eles antes e após a intervenção ($p>0,05$).

A baixa concentração de zinco no eritrócito das pacientes obesas, poderia estar associada a uma alteração no metabolismo de zinco, que levaria a uma distribuição anormal deste mineral no organismo. Este fenômeno foi observado em vários estudos com animais, que determinaram o zinco em diferentes compartimentos do organismo, como por exemplo, no fígado, pâncreas, fêmur, músculo e tecido adiposo. Embora em nosso trabalho a concentração de zinco verificada no eritrócito das pacientes obesas tenha sido inferior ao padrão de normalidade, não podemos afirmar que estas estejam deficientes em zinco.

DONALDSON *et al.* (1988) sugeriram que as alterações verificadas na distribuição de zinco nos tecidos não refletiam um estado de deficiência

desse mineral, e que a obesidade poderia alterar a distribuição de zinco no camundongo obeso, entretanto não esclareceu o mecanismo envolvido.

Nesse sentido, é oportuno ressaltar as observações feitas por BEGIN-HEICK *et al.* em 1985. Esses autores chamaram a atenção para alguns aspectos do metabolismo do zinco na obesidade. Este mineral se encontra nos tecidos ligado à metalotioneína, e, a síntese destas proteínas é estimulada pelo próprio zinco e também por determinados hormônios, como por exemplo os glicocorticóides. Em camundongos obesos, a concentração desse hormônio está normalmente elevada, o que segundo os autores, manteria níveis elevados de metalotioneína ligada ao zinco, "seqüestrando" este mineral em tecidos específicos.

KENNEDY *et al.* (1987) sugeriram que as alterações crônicas na distribuição de zinco nos tecidos e no metabolismo celular, em camundongos obesos (e talvez em humanos obesos), teriam efeitos adversos sobre suas funções fisiológicas. Assim, poderia-se explicar o fato da suplementação de zinco, melhorar a função imune (CHANDRA & KUTTY, 1980), e a ação da insulina (BEGIN-HEICK *et al.*, 1985).

Outros estudos têm verificado que há baixa concentração de zinco no plasma de indivíduos obesos seguida de um aumento após o tratamento com dieta de emagrecimento. MARTINO *et al.* (1993) avaliando a concentração de zinco no soro de 40 indivíduos obesos, antes e após o tratamento com uma dieta hipocalórica (737 kcal/dia), durante de 60 dias, verificaram que a concentração de zinco no soro antes da referida intervenção era de $88,6 \pm 4,7$ para o sexo masculino e de $77,6 \pm 5,9$ $\mu\text{g/dL}$ para o sexo feminino, e, após o tratamento, os valores encontrados foram de $103,0 \pm 5,2$ e de $103,0 \pm 6,9$ $\mu\text{g/dL}$ para o sexo masculino e feminino respectivamente. A hipótese desses pesquisadores, é de que nos indivíduos obesos, o zinco possivelmente estaria aumentado no tecido adiposo, e durante uma dieta hipocalórica, a mobilização deste tecido liberaria este mineral, resultando em um aumento secundário no soro.

Os relatos da literatura, de um modo geral, reportam que alguns parâmetros de adiposidade, como por exemplo o IMC e dobras cutâneas, são indicadores antropométricos que correlacionam-se, inversamente, com a concentração de zinco no plasma e soro (CHEN *et al.*, 1988; CHEN *et al.*, 1991; MARTINO *et al.*, 1993; CHEN *et al.*, 1997; PERRONE *et al.*, 1998).

Mais investigações são necessárias, para definir se a baixa concentração de zinco no plasma de indivíduos obesos, seria resultado metabólico de um aumento na demanda deste mineral em outros tecidos.

6.4. Avaliação de Insulina e Leptina Sérica

Alguns estudos com animais obesos tem sugerido que a baixa concentração de zinco no plasma, associada a um aumento em determinados tecidos, poderia estar relacionada à hiperinsulinemia e à resistência à insulina comumente presentes nesta doença.

Em nosso estudo, a concentração inicial de insulina sérica apresentou-se elevada nos dois grupos estudados, sendo superior aos valores de referência. Previsível, considerando-se que a hiperinsulinemia é uma característica da resistência à insulina. Ao final da intervenção, o grupo suplementado apresentou uma redução na concentração deste hormônio, com diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$), conforme mostra a **Tabela 8**.

Em estudos realizados em animais têm-se observado efeito semelhante. Em 1998, CHEN *et al.* (1998) avaliaram o efeito da suplementação de zinco sobre a hiperglicemia, hiperinsulinemia e resistência à insulina em camundongos diabéticos obesos. Estes autores verificaram que existe uma redução da insulina plasmática e na resposta glicêmica de 42% e 34% respectivamente. A sugestão desses autores é de que o zinco acentua a atividade da insulina.

Esses dados apoiam os resultados de COULSTON & DANDONA (1980) quando observaram em adipócitos de ratos, que o zinco tem um

efeito estimulatório da lipogênese, similar à ação da insulina, e que este efeito pode ser somado. Segundo os autores supra citados, a interação zinco/adipócito deve-se a um aumento da capacidade de ligação da insulina aos seus receptores.

Na tentativa de elucidar essas questões, alguns pesquisadores investigaram a relação entre zinco e insulina. Em 1997, CHEN *et al.* avaliaram a concentração de zinco no plasma de indivíduos obesos durante o teste oral de tolerância à glicose (10 indivíduos obesos e 11 indivíduos controles). Os autores verificaram que os indivíduos obesos apresentaram uma redução na concentração desse mineral no plasma ($13,5 \pm 1,0 \mu\text{mol/L}$), com diferença estatística significativa quando comparados com o grupo controle ($18,1 \pm 0,9 \mu\text{mol/L}$). A concentração de insulina dos indivíduos obesos e do grupo controle foram de $207,0 \pm 21,6 \text{ pmol/L}$ e de $41,4 \pm 7,2 \text{ pmol/L}$ e a de glicose foi de $5,4 \pm 0,1$ e $3,3 \pm 0,2 \text{ mmol/L}$, respectivamente. De acordo com os resultados desse estudo, os indivíduos obesos apresentaram baixo nível de zinco no plasma, e este, estava inversamente correlacionado à glicemia e à insulina plasmática.

Nos estudos realizados recentemente, investigando os mecanismos pelos quais o zinco atua estimulando a insulina para reduzir a hiperglicemia em animais obesos e/ou diabéticos, ficou demonstrado que na deficiência de zinco, diminui a concentração de leptina sérica e que após a suplementação com este mineral, ocorre um aumento da concentração desse hormônio (MANGIAN *et al.*, 1998; MANTZOROS *et al.*, 1998).

Já foi demonstrado em outros estudos, que a produção de leptina é influenciada pelas citocinas (SARRAT *et al.*, 1997; KIRCHGESSNER *et al.*, 1997), e que a suplementação com zinco por sua vez, aumenta a produção de interleucina 2 (IL-2) e do fator de necrose tumoral (TNF α).

Dessa forma, é possível que o aumento na produção das citocinas em resposta a suplementação com zinco, seria o mecanismo responsável pelo aumento da concentração de leptina sérica. Conforme já discutido anteriormente, ainda não está claramente definido se o zinco regula a

expressão de leptina diretamente, ou indiretamente por meio do aumento da produção de interleucina-6 e do TNF- α .

No estudo de CHEN *et al.* (2000) foi observado uma redução significativa da glicemia e um aumento da concentração de TNF α e da leptina sérica após a suplementação de zinco. Os autores sugeriram que o provável mecanismo para o efeito do zinco na redução da hiperglicemia em animais obesos e/ou diabéticos, seria por meio do aumento da expressão da leptina induzida por este mineral.

Em nosso estudo, os resultados obtidos da concentração de leptina sérica foram elevados para os dois grupos na fase pré intervenção, sem diferença estatística significativa entre eles ($p > 0,05$). Após a intervenção, o grupo suplementado com zinco apresentou um leve aumento na concentração de leptina, entretanto não houve diferença estatística significativa em relação aos valores iniciais ($p > 0,05$).

Trabalhos realizados para esclarecer a interação existente entre zinco e leptina são escassos. A dose de zinco utilizada no estudo de MANTZOROS *et al.* (1998), para verificar o efeito deste mineral sobre a secreção de leptina em humanos, foi de 60mg/dia durante um período de 6 a 8 semanas. Provavelmente a dose e o tempo de suplementação adotado em nosso estudo, não tenha sido suficiente para promover tal efeito.

6.5. Avaliação de Zinco na Urina

Com relação à excreção urinária de zinco, essa medida é pouco utilizada para avaliação do estado nutricional relativo ao zinco em pessoas saudáveis, entretanto, tem-se observado com o desenvolvimento da deficiência de zinco valores menores de excreção deste mineral. Por outro lado, em determinadas condições patológicas, como por exemplo, no *diabetes mellitus*, na cirrose hepática, e em outras doenças, esta medida encontra-se elevada, independente da deficiência deste mineral (GIBSON, 1990).

Em se tratando de obesidade, esse parâmetro também tem sido pouco utilizado para determinação do estado nutricional relativo ao zinco de indivíduos obesos. LEVINE *et al.* (1983), estudando camundongos obesos diabéticos, encontraram uma hiperzincúria ($2,8 \pm 0,5 \mu\text{g Zn/dia}$), quando comparados com o grupo controle, que apresentou uma excreção de $0,5 \pm 0,1 \mu\text{g Zn/dia}$.

No estudo de CHEN *et al.* (1998) também com camundongos obesos foi observada elevada concentração de zinco na urina ($165 \pm 18 \text{ nmol/dia}$) comparados ao grupo controle ($67 \pm 6 \text{ nmol/dia}$).

Em 1999, MARREIRO avaliou o estado nutricional relativo ao zinco de crianças e adolescentes obesos e verificou uma excreção de zinco na urina elevada no grupo obeso em relação ao grupo controle.

Neste estudo, não observamos aumento na concentração de zinco na urina de 24 horas, os valores encontravam-se dentro dos padrões de normalidade para os dois grupos antes da suplementação. Após a intervenção, o grupo suplementado apresentou um aumento de excreção, com diferença estatística significativa ($p < 0,05$) (Tabela 7).

O organismo possui um controle homeostático para manter o estado nutricional relativo ao zinco adequado. Em situações de deficiência deste mineral, ocorre uma maior absorção intestinal e redução na excreção

endógena de zinco (principalmente gastrointestinal). Por outro lado, em situação de elevada ingestão deste mineral, o organismo diminui a absorção aumentando a excreção.

A dose de 30mg de Zn aminoquelato utilizada neste estudo, foi maior do que a recomendação deste mineral (RDA para mulheres: 8mg/dia), entretanto, abaixo do limite tolerável de maior ingestão que é de 60mg/dia (FOOD AND NUTRITION BOARD, 2001). Portanto, a suplementação poderia ser o fator responsável pelo aumento da excreção urinária observada nas pacientes obesas suplementadas com zinco.

A proposta de suplementação de zinco com 30 mg foi baseada no aumento da ingestão de Zn sem maiores efeitos para o metabolismo do cobre. Doses acima deste valor, poderiam trazer efeitos negativos que poderia levar a comprometimento do estado nutricional relativo ao cobre (BREWER *et al.*, 1993).

Os trabalhos realizados utilizando esta medida, foram na maioria conduzidos em animais, e de um modo geral, não esclareceram o aumento da excreção urinária de zinco observado.

6.6. Redução da resistência à insulina

A originalidade deste trabalho surgiu a partir de estudos realizados anteriormente com animais ou *in vitro* onde se observou a participação do zinco em mecanismos ligados à resistência à insulina.

Em trabalho realizado anteriormente em humanos MARREIRO *et al.* (2001) também verificaram valores plasmáticos de insulina elevados em pacientes obesos, associados à baixa concentrações de zinco no plasma e eritrócito.

O método HOMA (*homeostasis model assessment*), utilizado neste estudo para caracterizar a resistência à insulina, foi elevado para os dois grupos na fase inicial do estudo, sem diferença estatística significativa entre

eles ($p > 0,05$). Após a intervenção, o grupo suplementado apresentou uma redução deste índice com diferença estatística significativa em relação aos valores iniciais ($p < 0,05$). Dessa forma, os nossos resultados mostram que a suplementação com zinco diminuiu a resistência à insulina.

Sabe-se que mudanças na composição corpórea fazem parte dos fatores que contribuem para a resistência à insulina. Os valores obtidos do IMC e a percentagem de gordura corporal verificada por meio da bioimpedância, não apresentaram diferença estatística significativa entre os dois grupos estudados ($p > 0,05$). Sendo assim, a redução da resistência à insulina, verificada pelo índice HOMA ir, não estaria associada às alterações da composição corporal.

A importância deste achado, abre a possibilidade da utilização da suplementação com zinco para fins terapêuticos em condições nas quais a resistência à insulina tem papel fisiopatológico. Além dos estados de intolerância à glicose, incluindo o diabetes tipo 2, outras situações de manifestações de elevação de componentes metabólicos da síndrome de resistência á insulina como: dislipidemia, hiperuricemia, etc. também podem ser alvo da terapia com zinco. Novos estudos se fazem necessários para confirmar esta hipótese e definir o potencial terapêutico da suplementação com zinco.

7.0 - Conclusões

7. CONCLUSÕES

✓ A dieta de ambos os grupos estudados, apresentava-se com elevado percentual de gordura e proteína, com concentração de carboidratos próximo ao recomendado e adequada em zinco.

✓ O estado nutricional relativo ao zinco das pacientes obesas, considerando-se os parâmetros bioquímicos avaliados, estava alterado, com concentrações diminuídas no plasma e eritrócitos, associados a uma excreção urinária elevada.

✓ A concentração de leptina sérica das pacientes obesas não foi alterada com a suplementação de zinco.

✓ Nas pacientes obesas que tomaram zinco, não houve correlação do estado nutricional relativo a este mineral com a insulina.

✓ A suplementação com zinco das pacientes obesas melhorou a resistência à insulina, medida pelo índice HOMA ir.

✓ Embora os mecanismos para este efeito ainda não estejam totalmente elucidados, recomenda-se mais estudos para verificar o possível efeito da suplementação com zinco em estados de resistência à insulina, tais como na obesidade e no diabetes.

✓ A leptina não é um bom parâmetro para investigar os mecanismos da resistência à insulina.

8.0 - Referências Bibliográficas

8.0 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABATE, N., GARN, A., PESHOCK, R.M., STRAY-GUNDERSEN, J., GRUNDY, S.M. Relationships of generalized and regional adiposity to insulin sensitivity. *J. Clin. Invest.*, New York, v.96, p.88-98, 1995.
- ABEL, E.D., SHEPHERD, P.R., KAHN, B.B. Glucose transporters and pathophysiologic states. In: ROITH, D., TAYLOR, S.I., OLEFSKY, J.M., eds. *Diabetes mellitus: a fundamental and clinical text*. Philadelphia: Lippincott-Raven, 1996. p.530-543.
- AGGETT, P.J., COMERFORD, J.G. Zinc in human health. *Nutr. Rev.*, New York, v.53, n.9, p.S16-S22, 1995.
- ATKINSON, R.L., DAHMS, W.T., BRAY, G.A., JACOB, R., SANDSTEAD, H.H. Plasma zinc and copper in obesity and after intestinal bypass. *Ann. Intern. Med.*, Philadelphia, v.89, p.491-493, 1978.
- ARITA, Y., KIHARA, S., OUCHI, N., TAKAHASHI, M., MAEDA, K., MIYAGAWA, J., HOTTA, K., SHIMOMURA, I., NAKAMURA, T., MIYAOKA, K., KURIYAMA, H., NISHIDA, M., YAMASHITA, S., OKUBO, K., MATSUBARA, K., MURAGUCHI, M., OHMOTO, Y., FUNAHASHI, T., MATSUZAWA, Y. Paradoxical decrease of na adipose-specific protein, adiponectin, in obesity. *Biochem. and Biophys. Res. Comm.* v. 257, p.79-83, 1999.
- ARQUILLA, E.R., THIENE, P., BRUGMAN, T., RUESS, W., SUGIYAMA, R. Effects of zinc ion on the conformation of antigenic determinants. *Biochem. J.*, London, v.175, p.289-297, 1978.
- ARAKI, E., MURAKIMI, T., SHIROTANI, T., KANAI, F., SHINOHARA, Y., SHIMADA, F., MORI, M., SHICHIRI, M., EBINA, Y. A cluster of four Sp1

binding sites required for efficient expression of the human insulin receptor gene. *J. Biol. Chem.*, Baltimore, v.6, p.3944-3948.

BANDINI, L.G., SCHELLER, D.A., CYR, H.N., DIETZ, W.H. Validity of reported energy intake in obese and nonobese adolescents. *Am. J. Clin. Nutr.*, Bethesda, v.52, p.421-425, 1990.

BASIOTIS, P.P., WELSH, S.O., CRONIN, F.T., KELSAY, J.L., MERTZ, W. Number of day of food intake records required to estimate individual and group nutrient intakes with defined confidence. *J. Nutr.*, Philadelphia, v.117, p.1638-1641, 1987.

BLACK, M.R., MEDEIROS, D.M., BRUNETT, E., WELKE, R. Zinc supplements and serum lipids in young adult white males. *Am. J. Clin. Nutr.*, Bethesda, v.47, p.970-975, 1988.

BERGMAN RN, IDER YZ, BOWDEN CR, COBELLI C. Quantitative estimation of insulin sensitivity. *Am J Physiol.*, Bethesda, v.236, p.E667-E677, 1979.

BERGMAN, R.N. Toward physiological understanding of glucose tolerance minimal-model approach. *Diabetes*, New York v.38, p.1512-1527, 1989.

BERGMAN, R.N., CITTERS, G.W.V., MITTELMAN, S.D., DEA, M.K., HAMILTON-WESSLER, MARIANTHE., KIM, S.P. Central role of the adipocyte in the metabolic syndrome. *J. Invest. Med.*, Thorofare, v.49, p.119-126, 2001.

BJÖRNTORP, P. The regulation of adipose tissue distribution in humans. *Int. J. Obes.*, London, v.20, p291-302, 1996.

- BJÖRNTORP, P. Etiology of the metabolic syndrome. In: BRAY, G.A., BOUCHARD, C., JAMES, W.P.T., eds. Handbook of obesity. New York. Marcel Dekker inc, 1998. p.573-600.
- BONORA E, MOGHETTI P, ZANCANARO C, CIGOLINI M, QUERENA M, CACCIATORI V, CORGNATI A, MUGGEO M. Estimates of in vivo insulin action in man: comparison of insulin tolerance tests with euglycemic and hyperglycemic glucose clamp studies. *J Clin Endocrinol Metab.*, Philadelphia, v. 68, p.374-378, 1989.
- BONORA E, TARGHER G, ALBERICHE M, BONADONNA RC, SAGGIANI F, ZENERE MB, MONAUNI T, MUGGEO M. *Homeostasis Model Assessment* closely mirrors the glucose clamp technique in the assessment of insulin sensitivity. *Diabetes Care.*, New York, v.23, p. 57-63, 2000.
- BOUTIST, L., FALKMER, S., HAVU, N., PIHL, E. Insulin biosynthesis, storage and secretion: pancreatic islet cells and islet cells. *Lakartidningen.* V.65, p.3603-3607, 1968. Apud: CHAUSMER, A.B. Zinc, insulin and diabetes. *J. Am. Coll. Nutr.*, New York, v.17, p.109-115, 1998.
- BRAAM, L.A., OCKE, M.C., BUENO-DE-MESQUITA, H. B., SEIDELL, J.C. Determinants of obesity-related underreporting of energy intake. *Am. J. Epidemiol.*, Baltimore, v.147, p.1081-1086, 1998.
- BRANDÃO NETO, J., VIEIRA, J.G.H., SHUHAMA, T., RUSSO, E.K, PIESCO, R.V., CURI, P.R. Interrelationships of zinc with glucose and insulin metabolism in humans. *Biol. Trace Elem. Res.*, Clifton, v.24, p.73-82, 1990.
-

- BRANDÃO NETO, J., VIEIRA, J.G.H., SHUHAMA, T., RUSSO, E.K., PIESCO, R.V., CURI, P.R. Interaction among zinc, glucose, and insulin in normal individuals during glucose and tolbutamid perfusion. *Biol. Trace Elem. Res.*, Clifton, v.28, p.123-133, 1991.
- BRANDÃO NETO, J., SILVA, C.A., FIGUEIREDO, N.B., SHUHAMA, T., CUNHA, N.F., DOURADO, F.B., NAVES, L.A. Lack of acute zinc effects in glucose metabolism in healthy and insulin-dependent *diabetes mellitus* tipo 2 patients. *Biometals.*, Clifton, v. 12, p.161-165, 1999.
- BRAY, T.M., BETTER, W.J. The physiological role of zinc as an antioxidant. *Free. Radical. Biol. Med.*, New York, v.8, p.281-291, 1990.
- BRAY, G.A. Obesity. In: ZIEGLER, E.E., FILER, L.J. ed. Present knowledge in nutrition. 7.ed. Washington: International Life Sciences Institute Nutrition Foundation, 1996. cap.4, p.19-31.
- BRAY, G.A., TARTAGLIA, L.A. Medicinal strategies in the treatment of obesity. *Nature.*, Washington, v.404, p.672-677, 2000.
- BRIEFL, 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.*, Bethesda, v.65, p.1203S-1209S, 1997.
- BREWER, G. J., YUZBASIYAN-GURKAN, V., JOHNSON, V., DICK, R.D., WANG, Y. Treatment of wilson's disease with zinc: XI. Interaction with other anticopper agents. *J. Am. Coll Nutr.*, New York, v. 12, n. 1, p.26-30, 1993.
-

- BRODY, T. Nutritional biochemistry. San Diego; Academic press, 1994, p.588.
- BIODYNAMICS. Monitor de composição corporal: biodynamics modelo 310. s.l.p., 1995, 25p. [Manual].
- BUSSAB, W.O., MORETTIN, P. A. Estatística Básica: métodos qualitativos. 4 ed. São Paulo: Atual, 1987. 321p.
- CHAUSMER, A.B. Zinc, insulin and diabetes. *J. Am. Coll. Nutr.*, New York, v.17, p.109-115, 1998.
- CHANDRA, R.K., KUTTY, K.M. Immunocompetence in obesity. *Acta Paediatr. Scand.*, Stockholm, v.25, p.25-30, 1980.
- CHAMPAGNE, C. M., BAKER, N.B., DeLANY, J.P. HARSHA, D.W., BRAY, G.A. Assessment of energy intake underreporting by doubly labeled water and observations on reported nutrient intakes in children. *J. Am. Diet. Assoc.*, Chicago, v.98, p.426-430, 433, 1998.
- 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.*, Bethesda, v.48, p.1307-1309, 1988.
- CHEN, M.D., LIN, P., SHEU, W. Zinc status in plasma of obese individuals during glucose administration. *Biol. Trace Elem. Res.*, Clifton, v.60, p.123-129, 1997.
- CHEN, M.D., LIN, P.Y., LIN, W.H. Investigation of the relationships between zinc and obesity. *Kao Hsiungl Hsue hKo Hsueh Tsa Chin.*, Taiwan, v.7, p.628-634, 1991. Apud: COMPREHENSIVE Medline. Peabody: EBSCO, 1997. [CDROM].
-

- CHEN, M.D., LIOU, S., LIN, P., 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.*, Clifton, v.61, p.303-311, 1998.
- CHEN, M.D., SONG, Y.M., LIN, P.Y. Zinc effects on hyperglycemia and hypoleptinemia in streptozotocin-induced diabetic mice. *Horm. Metab. Res.*, Stuttgart, v. 32, p.107-109, 2000.
- CONSENSO BRASILEIRO SOBRE DISLIPIDEMIAS, DETECÇÃO AVALIAÇÃO E TRATAMENTO. Departamento de Aterosclerose da Sociedade Brasileira de Cardiologia (SBC). *Arq. Bras. de Cardiol.*, São Paulo, v.77, suppl.3, pS1-S47, 2001.
- CORDEIRO, M.R.C. Adequação alimentar e avaliação do estado nutricional em relação ao zinco em um grupo de idosos institucionalizados. São Paulo, 1994. 49p. (Dissertação de mestrado - Faculdade de Ciências Farmacêuticas - USP).
- COULSTON, L., DANDONA, P. Insulin-like effects of zinc on adipocytes. *Diabetes.*, New York, v.29, p.665-667, 1980.
- COUSINS, R.J. Zinc. In: ZIEGLER, E.E., FILER, L.J. ed. Present knowledge in nutrition. 7.ed. Washington: International Life Sciences Institute Nutrition Foundation, 1996. cap 29, p.293-306.
- COUSINS, R.J. A role of zinc in the regulation of gene expression. *Proc. Nutr. Soc.*, Cambridge, v.57, p.307-311, 1998.
- COUSINS, R.J., HEMPE, J.M. Zinc. In: BROWN, M.L., ed. Present knowledge in nutrition. 6.ed. Washington: International Life Sciences Institute Nutrition Foundation, 1990. p.251-267.
-

- COUSINS, R.J. Zinc. In: ZIEGLER, E.E., FILER, L.J. ed. Present knowledge in nutrition. 7.ed. Washington: International Life Sciences Institute Nutrition Foundation, 1996. cap 29, p.293-306.
- COZZOLINO, S.M.F. Biodisponibilidade de minerais. *Rev. Nutr., PUCCAMP*, Campinas, v.2, n.10, p.87-98, 1997.
- CUNNINGHAM, B.C., BASS, S., FUH, G., WELLS, J.A. Zinc mediation of binding of human growth hormone to the human prolactin receptor. *Science.*, Washington, v.250, p.1709-1713, 1990.
- DEFRONZO RA, TOBIN JD, ANDRÉS R. Glucose clamp technique: a method for quantifying insulin secretion and resistance. *Am J Physiol.*, Bethesda, v.236, p.E214-E223, 1979.
- DURNIN, J.V.G.A., WOMERSLEY, J. Body fat assessed from total body density and its estimation from skinfold thickness: measurements on 481 men and women aged from 16 to 72 years. *Br. J. Nutr.*, London, v.32, p.77-92, 1974.
- DRESNER, A., LAURENT, D., MARCUCCI, M., GRIFFIN, M.E., DUFOUR, S., CLINE, G.W., SLEZAK, L.A., ANDERSEN, D.K., HUNDAL, R.S., ROTHMAN, D.L, PETERSEN, K.F., SHULMAN, G.I. Effects of free fatty acids on glucose transport and IRS-1 associated phosphatidylinositol 3-kinase activity. *J. Clin. Invest.*, New York. v. 103, p.253-259, 1999.
- EPSTEIN, F.H. Glucose transporters and insulin action. *N. Engl. J. Med.*, Boston, v.22, p.248-257, 1999.
- EZAKI, O. IIB group metal ions (Zn^{2+} , Cd^{2+} , Hg^{2+}) stimulate glucose transport activity by pos-insulin receptor kinase mechanism in rat adipocytes. *J. Biol. Chem.*, Baltimore, v.264, p.16118-16122, 1989.
-

- FAURE, P., ROUSSEL, A.M., MARTINI, M., FAVIER, A., HALIMI, S. Insulin-sensitivity in zinc depleted rats: assessment with the euglycemic hyperinsulinic clamp technique. *Diab. Metab.*, Paris, v.17, p.325-331, 1991.
- FAURE, P., ROUSSEL, A., COUDRAY, C., RICHARD, M.J., HALIMI, S., FAVIER, A. Zinc and insulin sensitivity. *Biol. Trace Elem. Res.*, Clifton, v.32, p.305-310, 1992.
- FAURE, P., LAFOND, J.L., ROSSINI, E., HALAMI, S., FAVIER, A., BLACHE, D. Evidence for the role of zinc in insulin protection against free redical attack: molecular and functional aspects. *Biochem. Biophys Acta.*, Amsterdam, v.1209, p.260-264, 1994.
- FAURE, P., BOUVARD, S., RAMON, O., ROUSSEL, A.M., HALIMI, S., FAVIER, A. Is zinc essential to modulate insulin sensitivity?. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON TRACE ELEMENTS IN MAN AND ANIMAL - Tema 10. 10TH., Evian - France, 1999. *Anais*, p.108.
- FEINSTEIN, R., KANETY, H., PAPA, M.Z., LUNENFELD, B., KARASIK, A. Tumor necrosis factor-alpha suppresses insulin-induced tyrosine phosphorylation of insulin receptor and its substrates. *J. Biol. Chem.*, Baltimore, v.268, p.26055-26058, 1993.
- FISCHER, P. W.F., COLLINS, M.W. Relationship between serum zinc and copper and risk factors associated with cardiovascular disease. *Am. J. Clin. Nutr.*, Bethesda, v.34, p.595-597, 1981.
- FLIER, J.S. The missing link with obesity?. *Nature.*, Washington, v.409, p.292-293, 2001.
-

FOOD AND NUTRITION BOARD. Dietary reference intakes for vitamin A, vitamin K, arsenic, boron, chromium, copper, iodine, iron, manganese, molybdenum, nickel, silicon, vanadium and zinc. Washington, D.C.: National Academy of Sciences, 2001.

FRAYN, K.N. Obesity. In: FRAYN, K.N. Metabolic regulation a human perspective. London: Portland Press, 1996. Cap.10, p.239-251.

FREVERT, E.U., KAHN, B.B. Differential effects of constitutively active phosphatidylinositol 3-kinase on glucose transport, glycogen synthase activity and DNA synthesis in 3T3-L1 adipocytes. *Mol. Cell. Biol.*, Washington, v. 17, p.190-198, 1997.

FRIEDEWALD, W.T., FREDRICKSON, D.S. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin. Chem.* v.18, p.499-502, 1972. Apud: Serum zinc and copper: associations with cholesterol and triglyceride levels in children and adolescents. cardiovascular risk in young finns. *J. Am. Coll. Nutr.*, New York, v. 8, n.5, p.400-406, 1989.

FRISANCHO, A.R. New norms of upper limb fat and muscle areas for assessment of nutritional status. *Am. J. Clin. Nutr.*, Bethesda, v.34, p.2540-2545, 1981.

FRISANCHO, R. New standards of weight and body composition by frame size and height for assessment of nutritional status in adults and elderly. *Am. J. Clin. Nutr.*, Bethesda, v.40, p.808-819, 1984.

GALLAGHER, D. VISSER, M., SEPULVEDA, D., PIERSON, R.N., HARRIS, T., HEYMSFIELD, S.B. Body mass index as an estimate of fatness across gender, age, sex and ethnic groups. *Am. J. Epidemiol.*, Baltimore, v.143, p.228-239, 1996.

- GELONEZE, B.N. Impacto da gastroplastia com derivação gastro-jejunal em parâmetros metabólicos e correlações com a melhora da sensibilidade à insulina. Campinas -São Paulo, 2001. 73p. (Tese de doutorado-Faculdade de Ciências Médicas - UNICAMP).
- GOODYEAR, L.J., GIORGINO, F., SHERMAN, L.A., CAREY, J., SMITH, R.J., DOHM, G.L. Insulin receptor phosphorylation, insulin receptor substrate-1 phosphorylation, and phosphatidylinositol 3 -kinase activity are decreased in intact skeletal muscle strips from obese subjects. *J. Clin. Invest.*, New York, v.95, p.2195-2204, 1995.
- GARVEY, W.T. Glucose transport and NIDDM. *Diabetes Care.*, New York, v.15, p.396-417, 1992.
- GRUNDY, S.M. Multifactorial causation of obesity: implications for prevention. *Am. J. Clin. Nutr.*, Bethesda, v.67, p.563s-572s, 1998.
- GIBSON, R.S. Assessment of trace-element status. In: GIBSON, R.S. Principles of nutritional assessment. New York: Oxford University Press, 1990. cap.24, p.511-576.
- GOLAY, A., BOBBIONI, E. The role of dietary fat in obesity. *Int. J. Obes.*, London, v.21, supl.3, p.S3-S11, 1997.
- GOODWING, J.S., HUNT, W.C., HOOPER, P., GARRY, P.J. Relationship between zinc intake, physical activity, and blood levels of high-density lipoprotein cholesterol in a healthy elderly population. *Metabolism.*, Baltimore, v.34, n.6, p.519-523, 1985.
- GORIS, A.H.C., WESTERTERP-PLANTENGA, M.S., WESTERTERP, K.R. Undereating and underrecording of habitual food intake in obese men:

selective underreporting of fat intake. *Am. J. Clin. Nutr.*, Bethesda, v.71, p.130-134, 2000.

GUTHRIE, H.A., PICCIANO, M.F. Micronutrient Minerals. In: GUTHRIE, H.A., PICCIANO, M.F., eds. Human nutrition. New York. Mosby, 1994. p.351-357.

GRUNDY, S.M. Multifactorial causation of obesity: implications for prevention. *Am. J. Clin. Nutr.*, Bethesda, v.67, p.563s-572s, 1998.

HEITMANN, B.L., LISSNER, L. Dietary underreporting by obese individuals- is it specific or non-specific?. *B.M.J.*, London, v.311, p.986-989, 1995.

HENDRICKS, D.G., MAHONEY, A.W. *Nutr. Food Sciences*. v. 102, p.1079, 1972. Apud: FAURE, P., ROUSSEL, A., COUDRAY, C., RICHARD, M.J., HALIMI, S., FAVIER, A. Zinc and insulin sensitivity. *Biol. Trace Elem. Res.*, Clifton, v.32, p.305-310, 1992.

HILL, J. O., MELANSON, E.L., WYATT, H.T. Dietary fat intake and regulation of energy balance: implications for obesity. *J. Nutr.*, Philadelphia, v. 130, p.284S-288S, 2000.

HINKS, L.J., CLAYTON, B.E. Zinc and copper concentrations in leucocytes and erythrocytes in healthy adults and the effect of oral contraceptives. *J. Clin. Pathol.*, London, v.36, p.1016-1021, 1983.

HOLLENBECK CB, CHEN N, CHEN Y-DI, REAVEN GM. Relationship between the plasma insulin response to oral glucose and insulin-stimulated glucose utilization in normal subjects. *Diabetes.*, New York, v.33, p.460-463, 1984.

HOOPER, P.L., VISCONTI, L., GARRY, P.J., JOHNSON, G.E. Zinc lowers high-density lipoprotein-cholesterol levels. *J. Am. Diet. Assoc.*, Chicago, v.244, p.1960-1961, 1980.

HOTAMISLIGIL, G.S., MURRAY, D.L., CHOY, L.N., SPIEGELMAN, B.M. Tumor necrosis factor alpha inhibits signaling from the insulin receptor. *Proc. Natl. Acad. Sci., U.S.A.* v.91, p.4854-4858, 1994.

HOTAMISLIGIL, G.S., PERALDI, P., BUDAVARI, A., ELLIS, R., WHITE, M.F. IRS-1 mediated inhibition of insulin receptor tyrosine kinase activity in TNF- α and obesity induced insulin resistance. *Science.*, Washington v.271, p.665-668, 1996.

HOTAMISLIGIL, G.S. The role of TNFalpha and TNF receptors in obesity and insulin resistance. *J. Clin. Invest.*, New York, v. 245, p.621-625, 1999.

HOTAMISLIGIL, G.S. Molecular mechanisms of insulin resistance and the role of the adipocyte. *Int. J. Obes.*, London, v.24, p.23S – 27S, 2000.

IYENGAR, V., WOLTTIEZ, J. Trace elements in human clinical specimens: evaluation of literature data to identify reference values. *Clin. Chem.*, Wiston-Salem, v.34, n.5, p.474-481, 1988.

KAHN, B.B. Facilitative glucose transporters: regulatory mechanisms and dysregulation in diabetes. *J. Clin. Invest.*, New York, v.89, p.1367-1374, 1992.

KAHN, B.B., FLIER, J.S. Obesity and insulin resistance. *J. Clin. Invest.*, New York, v. 106, p.473-481, 2000.

KAHN, S.E., PRIGEON, R.L., SCHWARTZ, R.S., FUJIMOTO, W.Y., KNOPP, R.H., BRUNZELL, J.D., JR, D.P. Obesity, body fat distribution, insulin sensitivity and islet β -cell function as explanations for metabolic diversity. *J. Nutr.*, Philadelphia, v.131, p.354S-360S, 2001.

KLEVAY, L.M. Coronary heart disease; the zinc/copper hypothesis. *Am. J. Clin. Nutr.*, Bethesda, v.28, p.764-774, 1975.

KLEVAY, L.M. Hypercholesterolemia in rats produced by increase in ratio of zinc to copper ingested. *Am. J. Clin. Nutr.*, Bethesda, v.26, p.1060-1068, 1973.

KILERICH, S., CHRISTIANSEN, M.S., NAESTOFT J., CHRISTIANSEN, 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*, Amsterdam, v.105, p.231-239, 1980.

KIM, Y.B., NIKOULINA, S.E., CIARALD, T.P., HENRY, R.R., KAHN, B.B. Normal insulin-dependent activation of Akt/protein kinase B, with diminished activation of phosphoinositide 3-kinase, in muscle in type 2 diabetes. *J. Clin. Invest.*, New York, v. 104, p.733-741, 1999.

KING, J.C., KEEN, C.L. Zinc. In: SHILS, M.E., OLSON, J.A., SHIKE, M., eds. Modern nutrition in health and disease. 8.ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 1994. v.1, p.214-230.

KIRK, S., LOGGIE, J. In: RICKERT, V., ed. Adolescent nutrition assessment and management. New York: Chapman & Hall, 1996, v.18, p.350-386.

KIRCHGESSNER, T.G., UYSAL, K.T., WIESBROCK, S.M., MARINO, M.W., HOTAMISLIGIL, G.S. Tumor necrosis factor α contributes to obesity-

- related hyperleptinemia by regulating leptin release from adipocytes. *J. Clin. Invest.*, New York, v.100, p.2777-2782, 1997.
- KOPELMAN, P.G. The effects of weight loss treatments on upper and lower body fat. *Int. J. Obes.*, London, v.21, 619-625, 1997.
- KOYAMA, K., CHEN, G., LEE, Y., UNGER, R.H. Tissue triglycerides, insulin resistance, and insulin production: Implications for hyperinsulinemia of obesity. *Am. J. Physiol.*, Bethesda, v.273, p.E708-E713, 1997.
- KREBS, N.F., HAMBIDGE, K.M. Trace elements in human nutrition. In: WALKER, W.L, WATKINS, J.B., eds. Nutrition in pediatrics basic science and clinical applications. 2ed. London: Decker Inc. Publisher, 1997. cap.7, p.91-99.
- KROKE, A., KLIPSTEIN-GROBUSCH, K., VOSS, S., MOSENER, J., THIELECKES, F., NOACK, R., BOEING, H. Validation of a self-administered food-frequency questionnaire administered in the european prospective investigation into cancer and nutrition (EPIC) study: comparison of energy, protein, and macronutrient intake estimated with the doubly labeled water, urinary nitrogen, and repeated 24h dietary recall methods. *Am. J. Clin. Nutr.*, Bethesda, v.70, p.439-447, 1999.
- KRODER, G., BOSSENMAIER, B., KELLERER, M., CAPP, E., STOYANOV, B., MUHLHOFER, A., BETIN, L., HORIKOSHI, H., ULLRICH, A., HARING, H. Tumor necrosis factor-alpha and hyperglycemia-induced insulin resistance. Evidence for different mechanisms and different effects on insulin signaling. *J. Clin. Invest.*, New York. v.97, p.1471-1477, 1996.
-

- KRSSAK, M., FALK PETERSEN, K., DRESNER, A. DIPITRO, L., VOGEL, S.M., ROTHMAN, D.L., RODEN, M., SHULMAN, G.I. Intramyocellular lipid concentrations are correlated with insulin sensitivity in humans: A ^1H NMR spectroscopy study. *Diabetologia.*, Oxford v.42, p.133-136, 1999.
- LAITINEN, R., VUORI, E., VIIKARI, J. Serum zinc and copper: Associations with cholesterol and triglycerides levels in children and adolescents. Cardiovascular risk in young finns. *J. Am. Coll. Nutr.*, New York, v.8, n.5, p.400-406, 1989.
- LARSON, D.E., TATARANNI, P.A., FERRARO, R.T., RAVUSSIN, E. Ad libitum food intake on a "cafeteria diet" in native american women: relations with body composition and 24 h energy expenditure. *Am. J. Clin. Nutr.*, Bethesda, v.62, p.911-917, 1995.
- LEMIEUX, S., PRUD'HOMME, D., BOUCHARD, C., TREMBLAY, A., DESPRÉS, J. A single threshold value of waist girth identifies normal-weight and overweight subjects with excess visceral adipose tissue. *Am. J. Clin. Nutr.*, Bethesda, v.64, p.685-693, 1996.
- LICHTMAN, S.W., PASARSKA, K., BERMAN, E.R., PRESTONE, M., DOWLING, H., OFFENBACHER, E., WEISEL, H., HESHKA, S., MATTHEWS, D.E., HEYMSFIELD, S.B. Discrepancy between self-reported and actual caloric intake and exercise in obese subjects. *N. Engl. J. Med.*, Boston, v.327, p.1893-1898, 1992.
- LEVINE, A.S., MacCLAIN, C.J., HANDWERGER, B.S., BROWN, D.M., MORLEY, J.E. Tissue zinc status of genetically diabetic and streptozotocin-induced diabetic mice. *Am. J. Clin. Nutr.*, Bethesda, v.37, p.382-386, 1983.

- LIN, W.H., CHEN, M.D., LIN, P.Y. Investigation of the profile of selected trace metals in genetically obese (ob/ob) and lean (\pm /?). *J. Formos. Med. Assoc.*, v.91, suppl.1, p.S27-S33, 1992. Apud: COMPREHENSIVE Medline. Peabody: EBSCO, 1997. [CDROM].
- LISSNER, L., LINDROOS, A.K. Is dietary underreporting macronutrient-specific. *Eur. J. Clin. Nutr.*, London, v.48, p.453-454, 1994.
- LISSNER, L., HEITMANN, B.L. Dietary fat and obesity: evidence from epidemiology. *Eur. J. Clin. Nutr.*, London, v.49, p.79-90, 1995.
- LICHTENSTEIN, A.H., KENNEDY, E., BARRIER, P., DANFORD, D., ERNST, N.D., GRUNDY, S.M., LEVEILLE, G.A., HORN, L.V., WILLIAMS, C.L., BOOTH, S.L. Dietary fat consumption and health. *Nutr. Res.*, New York, v.56, n.5, 1998.
- LÖNNQVIST, F., KRIEF, S., STROSBERG, A.D., NYBERG, B., EMORINE, L.J., ARNER, P. Evidence for a functional β_3 -adrenoceptor in man. *Br. J. Pharmacol.*, London, v.110, p.929-936, 1993.
- LÓPEZ, T.E., ELÍZAGA, I.V., GARD, J.I.G., LÓPEZ, R. E., PÉREZ, A. M., PUJADA, J.N. Cardiovascular risk factors in relation to the serum concentrations of copper and zinc: epidemiological study on children and adolescents in the spanish province of navarra. *Acta Paediatr.*, v.86, p.248-253, 1997.
- LOWY, S.L., FISLER, J.S., DRENCIK, E.J., HUNT, I.F., SWENDSEID, M.E. Zinc and copper nutriture in obese men receiving very low calorie diets of soy or collagen protein. *Am. J. Clin. Nutr.*, Bethesda, v.43, p.272-287, 1986.
-

- MA, Z., GINGERICH, R.L., SANTIAGO, J.V., KLEIN, S., SMITH, C.H., LANDT, M. Radioimmuassay of leptin in human plasma. *Clin. Chem.*, Washington., v. 42, p.942-946, 1996.
- MANCO, M., MINGRONE, G., GRECO, A.V., CAPRISTO, E., GNIULI, D., DE GAETANO, A., GASBARRINI, G. Insulin resistance directly correlates with increased saturated fatty acids in skeletal muscle triglycerides. *Metabolism.*, Baltimore v.49, p.220-224, 2000.
- MANGIAN, H.F., LEE, R.G., PAUL, G.L., EMMERT, J.L., SHAY, N.F. Zinc deficiency suppresses plasma leptin concentrations in rats. *J. Nutr. Biochem.*, Stoneham, v.9, p.47-51, 1998.
- MANTZOROS, C.S., PRASAD, A.S., BECK, F.W.J., GRABOWSKI, S., KAPLAN, J., ADAIR, C., BREWER, G.J. Zinc may regulate serum leptin concentrations in humans. *J. Am. Coll. Nutr.*, New York, v.17, p.270-275, 1998.
- MARREIRO, D.N. Avaliação do estado nutricional relativo ao zinco de crianças e adolescentes obesos. São Paulo, 1999.102p. (Dissertação de mestrado - Faculdade de Ciências Farmacêuticas – USP).
- MARREIRO, D.N., FISBERG, M., COZZOLINO, S.M.F. Zinc nutritional status in obese children and adolescents. *Biol. Trace Elem. Res.*, Clifton, (em press.)
- MARCHESINI, G., BUGIANESI, E., RONCHI, M., FLAMIA, R., THOMASETH, K., PACINI, G. Zinc supplementation improves glucose disposal in patients with cirrhosis. *Metabolism.*, Baltimore, v.47, p.792-798, 1998.
-

MARTINO, G., MATERA, M.G., MARTINO, B., VACCA, C., MARTINO, S., ROSSI, F. Relationship between zinc and obesity. *J. Med.*, Naples, v.24 p.177-183, 1993.

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

MILLER, W.C., LINDEMAN, A.K, WALLACE, J., NIEDERPRUEM, M. Diet composition, energy intake, and exercise in relation to body fat in men and women. *Am. J. Clin. Nutr.*, Bethesda, v.52, p.426-430, 1990.

McCANCE, R.A., WIDDOWSON'S, E.M. The composition of foods. 5.ed. Royal Society of Chemistry and Ministry of Agriculture Fisheries and Food 1991.

McMAHON, R.J., COUNSINS, R. Mammalian zinc transporters. *J. Nutr.*, Philadelphia, v.128, p.667-670, 1998.

MORGAN, C.R. LAZAROW, A. Immunoassay of insulin: two antibody system. plasma insulin levels in normal, subdiabetic, and diabetic rats. *Diabetes.*, New York, v.12, p115-126, 1963.

MUST, A., DALLA, G., DIETZ, W.H. Reference data for obesity: 85th and 95th percentiles of body mass index (w/ht^2) and triceps skinfold thickness. *Am. J. Clin. Nutr.*, Bethesda, v.53, p.839-846, 1991.

MASKE, H., GERMANY, M. Interaction between insulin and zinc in the islets of Langerhans. *Diabetes.*, New York, v.6, p.335-341, 1957.

- NETER, J., WASSERMAN, W., KUTNER, M.H. Applied linear statistical models regression analysis of variance and experimental designs. 3ed. Boston, 1996. 1181p.
- NATIONAL INSTITUTES OF HEALTH CLINICAL GUIDELINES ON THE IDENTIFICATION, EVALUATION, AND TREATMENT OF OVERWEIGHT AND OBESITY IN ADULTS – THE EVIDENCE REPORT. *Obesity Res.*, v.6, Suppl.2, p.S5-S209, 1998.
- NOETHER, G.E. Introdução à estatística: uma abordagem não paramétrica. 2.ed. Rio de Janeiro: Guanabara, 1983. 258p.
- NOLASCO, M.P.B. Diagnóstico clínico In: FISBERG, M., ed. Obesidade na infância e adolescência. São Paulo: Fundação BYK, 1995. cap.1, p.9-13.
- NOBILI, F., VIGNOLINI, F., FIGUS, E., MENGHER, E. Treatment of rats with dexamethasone or thyroxine reverses zinc deficiency-induced intestinal damage. *J. Nutr.*, Philadelphia v.127, p.1807-1813, 1997.
- OUCHI, H., KIHARA, S., ARITA, Y., MAEDA, K., KURIYAMA, H., OKAMOTO, Y., HOTTA, K., NISHIDA, M., TAKAHASHI, T., YAMASHITA, S., FUNAHASHI, T., MATSUZAWA, Y. Novel modulator for endothelial adhesion molecules – adipocyte-derived plasma protein adiponectin. *Circulation*, v.100, p.2473-2476, 1999.
- ORTEGA, R.M., REQUEJO, A. M., LÓPEZ-SOBALER, A.M., QUINTAS, M.E., ANDRÉS, P., REDONDO, M.R., NÁVIA B., LOÓPEZ-BONILLA, M.D. Differences in the breakfast habits of overweight/obese and normal weight schoolchildren. *J. Vit. Nutr. Res.*, Madri, v.68, p.125-132, 1998.
-

ORTEGA, R.M., REQUEJO, A.M., ANDRÉS, P., LÓPEZ-SOBALER, A.M., REDONDO, R., GONZÁLEZ-FERNÁNDEZ, M. Relationship between diet composition and body mass index in a grup of spanish adolescents. *Br. J. Nutr.*, London, v.74, p.765-773, 1995.

OLEFSKY JM, FARQUHAR JW, REAVEN GM. Relationship between fasting plasma insulin level and insulin-mediated glucose uptake in normal and diabetic subjects. *Diabetes.*, New York, v.22, p.507-513, 1973.

PACHOTIKARN, C., MEDEIROS, D. M., WINDHAM, F. Effect of oral zinc supplementation upon plasma lipids, blood pressure, and other variables in young adult white males. *Nutr. Reports Intern.*, Los Altos, v.32, n.2, p.373-381, 1985.

PAYNE, J.A., BELTON, N.R., Nutrient intake and growth in pre-school children.II. Intake of minerals and vitamins. *J. Human. Nutr. Diet.*, Salem, v.5, p.299-304, 1992.

PAN, D.A., LILLIOJA, S., KRIKETOS, A.D., et al. Skeletal muscle triglyceride levels are inversely related to insulin action. *Diabetes.*, New York, v.46, p.983-988, 1997.

PARK, J.H., GRANDJEAN, C.J., HART, M.H., ERDMAN, S.H., POUR, P., VANDERHOOF, J.A. Effect of pure zinc deficiency on glucose tolerance and insulin and glucagon levels. *Am. J. Physiol.*, Bethesda, v.251, p.E273-278, 1986.

PERETZ, A., NEVE, J., JEGHERS, O., LECLERCQ, N., PRAET, J., VERTONGEN, F., FAMAHEY, J. Interest of zinc determination in leucocyte fractions for the assessment of marginal zinc status. *Clin. Chim. Acta.*, Amsterdam, v.203, p.35-46, 1991.

- PERALDI, P., SPIEGELMAN, B. TNF-alpha and insulin resistance: summary and future prospects. *Mol. Cell. Biochem.*, Gravenhage, v. 182, p.169-175, 1998.
- PERRONE, L., GIALANELLA, G., MORO, R., FENG, S.L., BOCCIA, E., PALOMBO, G., CARBONE, M.T., TORO, R. Zinc, copper, and iron in obese children and adolescents. *Nutr. Res.*, New York, v.18, p.183-189, 1998.
- PI-SUNYER, F.X. Obesity. In: SHILS, M.E., OLSON, J.A., SHIKE, M., eds. Modern nutrition in health and disease. 8.ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 1994. v.2, cap.59, p.984-1006.
- PI-SUNYER, F.X. Obesity: criteria and classification. *Proc. Nutr. Soc.*, Cambridge, v.59, p.505-509, 2000.
- PRASAD, A.S. Clinical, biochemical and nutritional spectrum of zinc deficiency in human subjects: na update. *Nutr. Res.*, New York, v.41, p.197-211, 1983.
- PRASAD, A.S. Essential and toxic trace elements in human health and disease. New York: Alan R. Liss, 1988, p.3-53.
- PRASAD, A.S. Discovery of human zinc deficiency and studies in an experimental human model. *Am. J. Clin. Nutr.*, Bethesda, v.53, p.403-412, 1991.
- PRASAD, A.S. Zinc: the biology and therapeutics of an ion. *Ann. Intern. Med.*, Philadelphia, v.125, n.2, p.142-144, 1996.
- PRENTICE, A. M., BLACK, A.E., COWARD, W.A., COLE, T.L. Energy expenditure in overweight and obese adults in affluent societies: an
-

analysis of 319 doubly-labelled water measurements. *Eur J. Clin Nutr.*, London, v.50, p.93-97, 1996.

PHILIPPI, ST., SZARFARC, S.C., LATTERZA, A.R. *Virtual Nutri Software*, versão 1.0 for windows. Departamento de Nutrição da Faculdade de Saúde Pública - FSP-USP. São Paulo, 1996.

PINHEIRO, A.B.V., LACERDA, E.M.D.A., BENZECRY, F.H., GOMES, M.C.S., COSTA, V.M. Tabela para avaliação de consumo alimentar em medidas caseiras. 3.ed. Rio de Janeiro:1996. 51p.

POPPITT, S.D., SWANN, D., BLACK, A.E., PRENTICE, A.M. Assessment of selective under-reporting of food intake by both obese and non-obese women in a metabolic facility. *Int. J. Obes.*, London, v22, p.303-311, 1998.

POPPITT, S.D. Energy density of diets and obesity. *Int. J. Obes.*, London, v.19, Supp1., p.S20-S26, 1995.

PRASAD, A.S. Zinc deficiency in humans: a neglected problem. *J. Am. Coll. Nutr.*, New York, v.17, p.542-543, 1998.

QUARTERMAN, J., MILLS, C., HUMPHRIES, W: the reduced of and sensitivity to insulin in zn-deficient rats. *BBRC* v.25, p354-358, 1966. Apud: CHAUSMER, A.B. Zinc, insulin and diabetes. *J. Am. Coll. Nutr.*, New York, v.17, p.109-115, 1998.

QUETELET, L.A.J., *Anthropométrie ou mesure des différentes facultés de l'homme (anthropometry or measurement of different characteristics of man)*. p.479, Brussels: Muquerdtd.

- RANDLE, P., GARLAND, P., HALES, N., NEWSHOLME, E. The glucose-fatty acid cycle: its role in insulin sensitivity and the metabolic disturbances of *diabetes mellitus*. *Lancet.*, London, v.1: p.785-789, 1963.
- REAVEN, G.M. Role of insulin resistance in human disease. *Diabetes.*, New York, v. 37, p.1595-1607, 1988.
- 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.*, Norwalk, v.10, n.2, p.68-70, 1989.
- ROSSETTI, L., GIACCARI, A., KLEIN-ROBBENHAAR, E., VOGEL, L.R. Insulinomimetic properties of trace elements and characterization of their in vivo mode of action. *Diabetes*, New York, v.39, p.1243-1250, 1990.
- ROSEN, O.M. Structure and function of insulin receptors. *Diabetes*, New York, v.38, p.1508-1514, 1989.
- ROSENBAUM, M., LEIBEL, R.L., HIRSCH, J. Obesity. *N. Eng. J. Med.*, Boston, v. 337, p.396-407, 1997.
- ROTH H., KIRCHGESSNER M. Zinc and insulin metabolism. *Biol. Trace Elem. Res.*, Clifton, v.3, p.13-32, 1981.
- SANDSTRÖM, B. Bioavailability of zinc. *Eur. J. Clin. Nutr.*, London, Suppl. 1, p.S17-S19, 1997.
- SARRAT, P., FREDERICH, R.C., TURNER, E.M., MA, G., JACKOWIAK, N.T., RIVET, D.J., FLIER, J.S., LOWELL, B.B., FRACKER, D.L.,

- ALEXANDER, H.R. Multiple cytokines and acute inflammation raise mouse leptin levels: potential role in inflammatory anorexia. *J. Exp. Med.*, New York, v.185, p.171-175, 1997.
- SEIDELL, J.C., MOLARIUS, A. Selection of anthropometric indicators for classification of abdominal fatness-a critical review. *Int. J. Obes.* London, v.22, p.719-727, 1998.
- SCHWARTZ, M.W., WOODS, S.C., PORTE, D., SEELEY, R.J., BASKIN, D.G. Central nervous system control of food intake. *Nature.*, Washington, v.404, p.661-671, 2000.
- SCOTT, D.A. Crystalline insulin. *Biochem. J.*, London, v.28, p.1592-1598, 1934.
- SEIDELL, J.C., PÉRUSSE, L., DESPRÉS, J., BOUCHARD, C. Waist and hip circumferences have independent and opposite effects on cardiovascular disease risk factors: Quebec Family Study. *Am. J. Clin. Nutr.*, Bethesda, v. 74, p.315-321, 2001.
- SHEN SW, REAVEN GM, FARQUHAR JW. Comparison of impedance to insulin-mediated glucose uptake in normal subjects and in subjects with latent diabetes. *J Clin Invest.*; New York, v.49, p.2151-2160, 1970.
- STEPPAN, C.M. *Nature.*, Washington, v.409, p.307-312, 2001.
- TELFORD, W.G., FRAKER, P.J. Zinc reversibly inhibits steroid binding to murine glucocorticoid receptor. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, v.238, p.86-89, 1997.
-

- TRAYHURN, P., BEATTIE, J.H. Physiological role of adipose tissue: white adipose tissue as an endocrine and secretory organ. *Proc. Nutr. Soc.*, Cambridge, v.60, p.329-339, 2001.
- VAN ASSENDELFT, O.W. The measurement of hemoglobin. In: IZAK, G., LEWIS, S.M., eds. Modern concepts in hematology. New York: Academic Press, 1972. p.14-25.
- VAGUE, J. La differenciation sexuelle, facteur determinant des formes de l'obesity. *Press Medicale*, v.30, p.339-340, 1947.
- VALLEE, B.L., FALCHUK, H. The biochemical basis of zinc physiology. *Physiol. Rev.*, Bethesda, v.73, n.1, p.79-117, 1993.
- VIRKAMAKI, A., UEKI, K., KAHN, C.R. Protein-protein interaction in insuli signaling and the molecular mechanisms of insulin resistance. *J. Clin. Invest.*, New York, v.108, p.931-943, 1999.
- VOSS, S., KROKE, A. KLIPSTEIN-GROBUSCH, K., BOEING, H. Is macronutrient composition of dietary intake data affected by underreporting? results from the EPIC-Potsdam Study. *Eur. J. Clin. Nutr.*, London, v. 52, p.119-1126, 1998.
- ZUMOFF, B., STRAIN, G.W., MILLER, L.K., ROSNER, W., SENIE, R., SERES, D.S., ROSENFELD, R.S. Plasma free and non-sex-hormone-binding-globulin-bound testosterone are decreased in obese men in proportion to their degree of obesity. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, Philadelphia, v.71, p.929-931, 1990.
- WAJCHENBERG, B.L., SANTOMAURO, A.T.M.G., NERY, M., SANTOS, R.F., SILVA, M.E.L.R., URSICH, M.J.M., ROCHA, D.M. Resistência à insulina: métodos diagnósticos e fatores que influenciam a ação da
-

insulina. *Arq. Bras. Endocrinol. Metab.*, São Paulo, v.43, p.76-85, 1999.

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.*, Winston-Salem, v.28, p.475-480, 1982.

WHITE, M.F. The IRS-signalling system: a network of docking proteins that mediate insulin action. *Mol Cell Biochem.*, Gravenhage, v.182, p.3-11, 1998.

WHEELER, T.J. HINCKLE, P.C. *Am. J. Phys.*, v.47, p.503, 1985. Apud: FAURE, P., ROUSSEL, A., COUDRAY, C., RICHARD, M.J., HALIMI, S., FAVIER, A. Zinc and insulin sensitivity. *Biol. Trace Elem. Res.*, Clifton, v.32, p.305-310, 1992.

WILLETT, W.C. Is dietary fat a major determinat of body fat? *Am. J. Clin. Nutr.*, Bethesda, v.67, Suppl.1, p.556S-562S, 1998.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Prevention status: the use and interpretation of antropometry. Geneva, 1995. p.263-307. [Technical Reports Series, n.854].

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Prevention and management of the global epidemic of obesity. report of a WHO consultation on obesity. Geneva, 1997.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Prevention and management of the global epidemic of obesity. Geneva, 1998.

YOKOTA, T., ORITANI, K., TAKAHASHI, I., ISHIKAWA, J., MATSUYAMA, A., OUCHI, N., NIHARA, S., FUNAHASHI, T., A.J., TENNER, A.J., TOMIYAMA, Y., MATSUZAWA, Y. Adiponectin, a new member of the family of soluble defense collagens, negatively regulates the growth of myelomonocytic progenitors and the functions of macrophages. *Blood*, v.96, p.1723-1732, 2000.

YOUNGREN, J.F., KEEN, S., KULP, J.L., TANNER, C.J., HOUMARD, J.A., GOLDFINE, I.D. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.*, Bethesda, v.280, p.E528-E533, 2001.

YUAN, M., KONSTANTOPOULOS, N., LEE, J., HANSEN, L., LI, Z., KARIN, M., SHOELSON, S.E. Reversal of obesity - and diet-induced insulin resistance with salicylates or targeted disruption of $ikk\beta$. *Science.*, Washington, v.31, p.1673-1677, 2001.

Anexos



HOSPITAL DAS CLÍNICAS

D.A.

FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

CAIXA POSTAL. 8091

SÃO PAULO - BRASIL

DIRETORIA CLÍNICA

Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa

APROVAÇÃO

A Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa - CAPPesq da Diretoria Clínica do Hospital das Clínicas e da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, em sessão de 12.09.01, **APROVOU** o Protocolo de Pesquisa nº 102/01, intitulado: "Efeito da suplementação com zinco sobre a resistência à insulina em indivíduos obesos", do Departamento de Clínica Médica, bem como o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

Pesquisador Responsável: Dr. Antonio Carlos Lerário

Pesquisadora Executante: Sra. Dilina do Nascimento Marreiro

CAPPesq, 13 de setembro de 2001.


PROF. DR. JORGE KALIL FILHO
Presidente da Comissão de Ética para Análise
de Projetos de Pesquisa

OBSERVAÇÃO: Cabe ao pesquisador elaborar e apresentar à CAPPesq, os relatórios parciais e final sobre a pesquisa (Resolução do Conselho Nacional de Saúde nº 196, de 10.10.1996, inciso IX.2, letra "c")

FNBP POS-GRADUACAO-SE 17-set-2001-11:36-9996





UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
Cidade Universitária "Armando de Salles Oliveira"
Av. Prof. Lineu Prestes, 580 - CEP: 05508-900
Tel. (011) 3818-3677 - Fax: (011) 211-8986

Assistência Acadêmica
Ofício CEP nº 66

São Paulo, 13 de Setembro de 2000.

Prezada Senhora

O Comitê de Ética em Pesquisa desta Faculdade, em reunião realizada em 28 de agosto p. passado, aprovou o projeto "Efeito da suplementação do zinco em indivíduos obesos que apresentam resistência a insulina" apresentado por Vossa Senhoria.

Lembramos que após a execução de 50% do cronograma do projeto, deverá ser apresentado um relatório parcial, de acordo com o Artigo 18 - item C, da Portaria FCF-111/97.

Atenciosamente,

Profa. Dra. Dulcinéia Saes Parra Abdalla
Coordenadora do CEP/FCF

Ilma. Sra.
Dilina do Nascimento Marreiro
Pós-Graduanda do FBA

Universidade de São Paulo
Faculdade de Ciências Farmacêuticas da USP
FICHA DE CADASTRAMENTO Nº _____

GRUPO: _____

Identificação

Nome _____ Data ____/____/____

DN ____/____/____ Idade ____ anos Sexo ____ Naturalidade _____

Escolaridade _____

Ocupação _____

Endereço _____

Bairro _____ Cidade _____ Estado _____

CEP _____ - _____ Tel _____

História Clínica

a) Tratamentos Anteriores: S () N ()

Perda de Peso () Hipercolesterolemia () Hipertensão Arterial () Outros ()

Quais? _____

b) Antecedentes Familiares: S () N ()

Obesidade (1) DM (2) Hipertensão (3) DCV (4) Dislipidemias (5)

c) Presença de Doenças: S () N () Hipertensão Arterial () Diabetes () Doença Renal, Hipotireoidismo Outras () _____

d) Uso de Medicamentos: S () N () Qual? _____

Carta de Informação ao Participante da Pesquisa

Título do Projeto: Efeito da suplementação com zinco sobre a resistência à insulina em mulheres obesas.

Objetivo: Avaliar o efeito da suplementação com zinco sobre a resistência à insulina em mulheres obesas.

Orientadora: Prof^ª. Titular Sílvia M.F. Cozzolino
Autora da Pesquisa: Dilina do Nascimento Marreiro
Co - orientador: Prof. Assoc. Alfredo Halpern

Caro Colaborador,

Este formulário foi elaborado de acordo com a "Declaração de Helsinque III", capítulo 50, que trata de proteção de participantes (parágrafos 50.20/27). Orienta procedimentos referentes às pesquisas que necessitam de experiências com humanos.

Concordando em participar dessa pesquisa, você será submetido aos seguintes procedimentos:

- Duas coletas de sangue venoso para análise do zinco, insulina, leptina, glicose, triacilglicerol, colesterol total e frações;
- Um teste oral de tolerância à glicose (TTGO), para excluir os pacientes intolerantes à glicose e diabéticos;
- Duas coletas de urina de 24h;
- Levantamento do consumo alimentar pela técnica de registro alimentar de 3 dias;
- Avaliações antropométricas, através de medidas de peso, estatura, dobras cutâneas e bioimpedância para verificar o estado nutricional.

Os resultados obtidos serão arquivados e mantidos em sigilo, conforme ética. Os colaboradores poderão desistir da pesquisa em qualquer momento, em que motivos superiores assim determinarem.

Atenção: Você terá garantia de esclarecimentos de dúvidas acerca dos procedimentos, benefícios e outros assuntos relacionados com a pesquisa.

Termo de Consentimento

Eu _____ ciente do compromisso assumido com a pesquisa, "Efeito da suplementação com zinco sobre a resistência insulínica mulheres obesas" que compreende o trabalho de tese de doutorado da discente Dilina do Nascimento Marreiro, do Departamento de Alimentos e Nutrição Experimental FCF - USP. Tendo entendido os procedimentos que serão utilizados para realização desta, dou por escrito o meu consentimento, subscrevendo - me a seguir:

São Paulo, ____/____/____

Assinatura do participante da pesquisa: _____

Assinatura do pesquisador : _____

AVALIAÇÃO NUTRICIONAL
–ANTROPOMETRIA–

NOME: _____ DATA ___/___/___

DN: ___/___/___ Nº _____

GRUPO: _____

DADOS ANTROPOMÉTRICOS:

IDADE ___ anos ALTURA _____ cm

PESO _____ kg SEXO _____

DOBRAS/CIRC.	1ª MEDIDA	2ª MEDIDA	3ª MEDIDA
DCT			
DCSE			
DCSI			
DCB			
CB		_____	_____
CIRC. QUADR.		_____	_____
CIRC. CINTUR.		_____	_____

IMC (kg/m²): _____

CLASSIFICAÇÃO: _____

**INSTRUÇÕES AOS PACIENTES QUANTO À OBTENÇÃO DE
URINA DE 24 HORAS**

A obtenção da urina será realizada em frascos plástico com capacidade de 2 litros sem conservantes mantido SEMPRE em geladeira até na hora da entrega. Será fornecido um funil plástico para facilitar a obtenção que NÃO deverá ser lavado, sendo guardado em saco plástico limpo e protegido de contaminação por poeira.

A urina deverá ser obtida da seguinte forma: pela manhã, ao acordar, o paciente irá desprezar a primeira urina, ou seja, não deverá guardá-la na garrafa; a partir da segunda urina todas deverão ser guardadas na garrafa com a ajuda do funil até a primeira do dia seguinte.

ATENÇÃO: Todo o material será fornecido pela pesquisadora.

Anexo 8

COEFICIENTES OBTIDOS POR MEIO DAS ANÁLISES DE CORRELAÇÃO ENTRE AS VARIÁVEIS CLÍNICAS E BIOQUÍMICAS E OS PARÂMETROS SANGUÍNEOS UTILIZADOS NA DETERMINAÇÃO DE ZINCO.

Parâmetros antropométricos, percentual de gordura corpórea e zinco plasmático (grupo suplementado).

Variáveis	Coeficiente de correlação (r)	
	pré	pós
IMC X Zinco no plasma	-0.102	0.058
% gordura corporal X Zinco no plasma	-0.151	0.105
Σ pregas cutâneas X Zinco no plasma	0.045	0.077

(*) correlação estatisticamente significativa ($P < 0,05$)

Concentração de zinco na dieta, e parâmetros sanguíneos e urinário (grupo suplementado).

Variáveis	Coeficiente de correlação (r)	
	Pré	Pós
Zinco na dieta (mg) X Zinco no plasma	-0.135	-0.282
Zinco na dieta (mg) X Zinco erit. (g/Hb)	-0.381*	0.036
Zinco na dieta (mg) X Zinco eritroc. (mL)	-0.345	-0.083
Zinco na dieta (mg) X Zinco urin. (mL)	-0.178	0.016
Zinco na dieta (mg) X Zinco urin. (24h)	0.037	0.083

(*) correlação estatisticamente significativa ($P < 0,05$)

Perfil lipídico, insulina, leptina e zinco no plasma (grupo suplementado).

Variáveis	Coeficiente de correlação (r)	
	Pré	Pós
Triacilglicerol X Zinco no plasma	-0.066	0.125
Colesterol X Zinco no plasma	-0.157	-0.200
VLDL -C X Zinco no plasma	-0.068	0.164
LDL-C X Zinco no plasma	-0.238	-0.252
HDL-C X Zinco no plasma	0.252	-0.005
Insulina sérica X Zinco no plasma	0.242	-0.018
Leptina sérica X Zinco no plasma	0.086	0.078
Leptina sérica X Kg de gordura corporal	0.188	0.380

(*) correlação estatisticamente significativa ($P < 0,05$)

Anexo 9

COEFICIENTES OBTIDOS POR MEIO DAS ANÁLISES DE CORRELAÇÃO ENTRE AS VARIÁVEIS CLÍNICAS E BIOQUÍMICAS E OS PARÂMETROS SANGUÍNEOS UTILIZADOS NA DETERMINAÇÃO DE ZINCO.

Parâmetros antropométricos, percentual de gordura corpórea e zinco plasmático (grupo placebo).

Variáveis	Coeficiente de correlação (r)	
	Pré	Pós
IMC X Zinco no plasma	-0.265	-0.182
% gordura corporal X Zinco no plasma	-0.208	-0.323
Σ pregas cutâneas X Zinco no plasma	-0.158	-0.295

(*) correlação estatisticamente significativa ($P < 0,05$)

Concentração de zinco na dieta, e parâmetros sanguíneos e urinário (grupo placebo).

Variáveis	Coeficiente de correlação (r)	
	Pré	Pós
Zinco na dieta (mg) X Zinco no plasma	-0.097	0.180
Zinco na dieta (mg) X Zinco eritr. (g/Hb)	-0.095	-0.123
Zinco na dieta (mg) X Zinco eritr. (mL)	-0.037	-0.181
Zinco na dieta (mg) X Zinco urin. (mL)	0.205	0.190
Zinco na dieta (mg) X Zinco urin. (24h)	0.234	0.515*

(*) correlação estatisticamente significativa ($P < 0,05$)

Perfil lipídico, insulina, leptina e zinco no plasma (grupo placebo).

Variáveis	Coeficiente de correlação (r)	
	Pré	Pós
Triacilglicerol X Zinco no plasma	0.284	0.087
Colesterol X Zinco no plasma	0.088	-0.289
VLDL -C X Zinco no plasma	0.261	0.089
LDL-C X Zinco no plasma	0.097	-0.239
HDL-C X Zinco no plasma	-0.044	-0.339
Insulina sérica X Zinco no plasma	0.056	0.189
Leptina sérica X Zinco no plasma	-0.038	-0.105
Leptina sérica X Kg de gordura corporal	0.112	0.234

(*) correlação estatisticamente significativa ($P < 0,05$)