

Concentrações de cobre em mulheres obesas e sua relação com marcador da peroxidação lipídica

Copper concentrations in obese women and their relationship to lipid peroxidation marker

Brito, Gleicy Helly Ribeiro¹; Tajra, Vanessa Evangelista Freitas¹; Rocha dos Santos, Loanne¹; Melo, Stéfany Rodrigues de Sousa¹; Moraes, Jennifer Beatriz Silva¹; Soares Severo, Juliana¹; Batista Beserra, Jéssica¹; Monte Feitosa, Mayara¹; Fontenelle, Larissa Cristina¹; Henriques, Gilberto Simeone²; Marreiro, Dilina do Nascimento¹

¹ Universidade Federal do Piauí.

² Universidade Federal de Minas Gerais.

Recibido: 4/mayo/2018. Aceptado: 15/septiembre/2018.

RESUMO

Introdução: Estudos atuais têm mostrado relação entre minerais antioxidantes e desordens bioquímicas envolvidas na patogênese da obesidade, em especial, a peroxidação lipídica. Nesse sentido, a literatura revela importância da atuação de elementos traços, a exemplo do cobre, na proteção contra a produção excessiva de radicais livres em indivíduos obesos.

Objetivo: deste estudo foi avaliar as concentrações de cobre em mulheres obesas e sua relação com marcador da peroxidação lipídica.

Metodologia: Estudo de natureza transversal, analítico e experimental envolveu 89 mulheres, com idade entre 20 e 50 anos, distribuídas em dois grupos: grupo controle (mulheres eutróficas, n=45) e grupo caso (obesas, n=44). As concentrações plasmáticas e eritrocitárias do cobre foram determinadas por espectrometria de absorção atômica. As concentrações plasmáticas das TBARS foram determinadas seguindo-se método descrito por Ohkawa, Ohishi e Yagi (1979), com adaptações.

Resultados: A concentração das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico foi significativamente maior no grupo caso em comparação com o grupo controle ($p=0,001$). O grupo caso apresentou concentrações inferiores de cobre

plasmático e eritrocitário ($p<0,05$). Ambos os grupos apresentaram concentrações adequadas de cobre eritrocitário e plasmático. Não foi verificada correlação significativa entre o cobre plasmático e eritrocitário e parâmetros de adiposidade ($p>0,05$).

Conclusão: Os resultados deste estudo indicam concentrações plasmáticas e eritrocitárias de cobre dentro da faixa de adequação, sendo que o grupo caso apresenta concentrações inferiores comparado ao grupo controle. O estudo não revelou correlação significativa entre o marcador de peroxidação lipídica e as concentrações de cobre plasmático e eritrocitário.

PALAVRAS-CHAVE

Cobre. Estresse oxidativo. Obesidade.

ABSTRACT

Background: Current studies have shown a relationship between antioxidant minerals and biochemical disorders involved in the pathogenesis of obesity, especially lipid peroxidation. In this sense, the literature reveals importance of the performance of trace elements, such as copper, in the protection against the excessive production of free radicals in obese individuals.

Objective: was to evaluate how the associations of obese women and their interface with lipid peroxidation.

Methods: Cross-sectional, analytical and experimental involved 89 women, aged between 20 and 50 years, divided into two groups: control group (eutrophic women, n = 45)

Correspondencia:

Dilina do Nascimento Marreiro
dilina.marreiro@gmail.com

and case group (obese, $n = 44$). As plasma and erythrocyte concentrations of copper and determined by atomic absorption spectrometry. Plasma concentrations of TBARS were determined following the method described by Ohkawa, Ohishi and Yagi (1979), with adaptations.

Results: The concentration of the reactive substances to thiobarbituric acid was significantly higher in the case group compared to the control group ($p = 0,001$). The case group had lower concentrations of plasma and erythrocyte copper ($p < 0,05$). Both groups had adequate concentrations of erythrocyte and plasma copper. There was no significant correlation between plasma and erythrocyte copper and adiposity parameters ($p > 0,05$).

Conclusion: From the results of this study, it can be concluded that the participants of the study have plasma and erythrocyte copper concentrations within the adequacy range, and the case group presents lower concentrations compared to the control group. In addition, no significant correlation was found between the lipid peroxidation marker and the plasma and erythrocyte copper concentrations.

KEYWORDS

Copper. Oxidative stress. Obesity.

ABREVIATURAS

DNA: Ácido Desoxirribonucleico.

EDTA: Ácido Etilenodiamino Tetra-Acético.

TBARS: Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico.

INTRODUÇÃO

A obesidade é uma doença crônica de prevalência elevada que, nos últimos anos, tem se tornado uma epidemia global, sendo importante consequência de morte¹. Na patogênese dessa doença existem diversos distúrbios metabólicos importantes e que são considerados fatores contribuintes para o desenvolvimento da resistência à insulina, inflamação crônica de baixo grau e estresse oxidativo².

Nesse sentido, destaca-se que o estresse oxidativo constitui um desequilíbrio entre a produção excessiva de espécies reativas de oxigênio e a defesa antioxidante. Os radicais livres produzidos podem reagir com lipídios, proteínas e ácidos nucleicos, em especial o ácido desoxirribonucleico (DNA), estando associados a danos oxidativos e ao processo de peroxidação lipídica³.

Nessa perspectiva, os minerais têm sido alvo de estudos com o intuito de identificar a participação destes na proteção contra os radicais livres, e, consequentemente, na prevenção de desordens metabólicas importantes envolvidas na patogênese da obesidade, como o cobre. Esse mineral desempenha papel fundamental no sistema de defesa antioxidante, por ser cofator de enzimas importantes, como a enzima superóxido dismutase⁴.

Considerando a complexidade da patogênese da obesidade envolvendo a participação do estresse oxidativo, bem como a atuação do cobre no sistema de defesa antioxidante, o objetivo desse estudo foi avaliar a relação entre as concentrações de cobre e marcador da peroxidação lipídica em mulheres obesas.

MATERIAIS E MÉTODOS

Estudo de natureza transversal e analítica, envolvendo 89 mulheres com idade entre 20 e 50 anos. As participantes foram distribuídas em dois grupos: obesas em idade fértil ($n = 44$) e controle ($n = 45$). As participantes do estudo foram selecionadas por meio de entrevista, com os seguintes critérios de inclusão: índice de massa corpórea entre 18,5 e 24,9 kg/m² (grupo controle) e 30 e 39,9 kg/m² (grupo caso); não fumantes; não ingerir álcool cronicamente, não gestantes, não lactantes, ausência de diabetes mellitus, insuficiência renal crônica, doenças hepáticas ou processos inflamatórios clínicos rotineiros e não fazer uso de suplemento vitamínico-mineral.

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa da Universidade Federal do Piauí (protocolo nº 2.085.404) e conduzido em concordância com a Declaração de Helsinki. Todas as participantes assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

Avaliação do Estado Nutricional

Para avaliar o estado nutricional, foi determinado o índice de massa corporal, calculado a partir do peso da participante do estudo dividido por sua estatura elevada ao quadrado. A classificação do estado nutricional foi realizada de acordo com as recomendações da World Health Organization⁵. A medida da circunferência da cintura foi realizada com uma fita flexível e inelástica envolvendo a cintura natural; a área mais estreita entre o peito e os quadris serviu como valor de referência, conforme proposto pela World Health Organization⁶.

Determinação dos Parâmetros Bioquímicos do Cobre

Amostras de 8mL de sangue venoso foram coletadas no período da manhã, entre 7 e 9 horas, estando as participantes em jejum mínimo de 12 horas, sendo utilizadas seringas plásticas descartáveis e agulhas de aço inoxidável, estéreis e descartáveis. O sangue colhido foi distribuído em tubos com EDTA para determinação do cobre (4mL) e das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (4mL).

As análises do cobre plasmático e eritrocitário foram realizadas em espectrômetro de emissão óptica com plasma acoplado indutivamente (720 ICP/OES, Varian Inc., Estados Unidos)⁷⁻⁹. O aparelho foi configurado com as seguintes condições experimentais: Potência: 1,4 kW; Fluxo de plasma (gás): 15 L/min; Fluxo de gás auxiliar: 1,5 L/min; Tipo de câmara de spray: ciclônica; e Fluxo do nebulizador: 0,7 L/min.

As amostras do plasma foram diluídas em 1:20 (v/v) da seguinte forma: 3,0% (m/v) 1-butanol, 0,1% (v/v) TAMA (surfactante de alta pureza), 0,05% (v/v) HNO_3 . As amostras dos eritrócitos/papa de hemácias foram diluídas em 1:60 (v/v) da seguinte forma: 3,0% (m/v) 1-butanol, 0,2% (v/v) TAMA (surfactante de alta pureza), 0,1% (v/v) HNO_3 . Todos os padrões foram preparados da mesma forma que as amostras. As curvas de calibração foram preparadas nas seguintes concentrações: 1, 5, 10, 20, 50 e 100 $\mu\text{g/L}$ em soluções diluentes contendo 3,0% (m/v) 1-butanol, 0,1% (v/v) TAMA (surfactante de alta pureza) e 0,05% (v/v) HNO_3 .

A escolha das linhas espectrais de análise foi baseada tanto na sua sensibilidade quanto na interferência espectral. A leitura para o cobre foi realizada no comprimento de onda de 324,760 nm. Os limites de detecção foram determinados a partir da equação: $3 \times \text{desvio padrão de 10 medições do branco}$, dividido pela declividade da curva de calibração. Amostras de material de referência certificado (Seronorm® Oligoelement Serum, Noruega) foram determinadas para validar as medições analíticas em ICP-OES.

Determinação das Concentrações Plasmáticas das Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico (TBARS)

As substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) no plasma foram determinadas usando o método sugerido por Ohkawa, Ohishi e Yagi¹⁰. Antes do processamento da amostra, as curvas analíticas de calibração foram preparadas em concentrações de 0,5, 1,0, 2,0, 4,0 e 8,0 nmol / mL, usando

1,1,3,3-tetraetoxipropano como padrão. A absorbância foi lida utilizando um espectrofotômetro UV / Vis Bel Photonics, modelo SP 1102 (Osasco, SP, Brasil), com comprimento de onda de 532 nm.

Análise Estatística

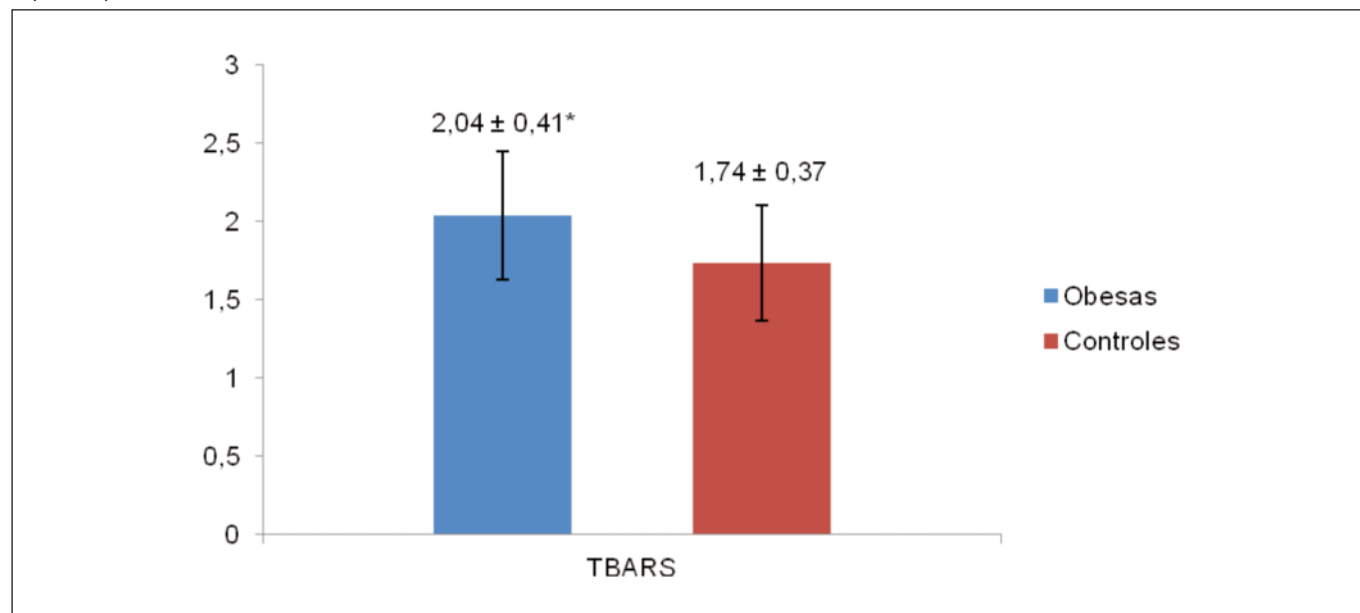
Os dados foram analisados utilizando o software SPSS for Windows® versão 20.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, EUA). O teste de Kolmogorov-Smirnov foi aplicado para verificar a normalidade dos dados. Para comparar medidas de desfecho entre os dois grupos de sujeitos, o teste t de Student foi usado para dados paramétricos. A fim de identificar a existência de associações entre as variáveis analisadas, foi utilizado o teste exato de Fisher. Para o estudo de correlações, o coeficiente de correlação linear de Pearson foi utilizado para os dados com distribuição normal. A diferença foi considerada estatisticamente significativa quando o valor de $p < 0,05$, admitindo-se um erro de 5%.

RESULTADOS

A média de idade das mulheres obesas e do grupo controle foi $38,30 \pm 6,68$ e $36,96 \pm 7,33$, respectivamente ($p = 0,371$). Houve diferença significativa entre o peso corporal ($83,30 \pm 9,52$; $53,57 \pm 5,02$), índice de massa corporal ($35,07 \pm 2,43$; $22,10 \pm 1,55$) e circunferência da cintura ($100,94 \pm 8,46$; $72,58 \pm 4,83$) ($p < 0,05$).

Os resultados da análise da concentração plasmática das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico estão apresentados na Figura 1. Pode-se verificar que houve diferença signi-

Figura 1. Concentração plasmática das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico das mulheres obesas e grupo controle. Teresina-PI, Brasil, 2017.



Obesas (n=44) e Controle (n=45). *Valores significativamente diferentes entre as mulheres obesas e grupo controle, teste t de Student ($p=0,001$). TBARS = Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico.

ficativa entre as concentrações desse biomarcador nos grupos estudados ($p=0,001$).

Na Tabela 1 encontram-se as concentrações de cobre no plasma e nos eritrócitos das mulheres obesas e grupo controle. Verifica-se que o grupo controle apresentou maiores concentrações de cobre plasmático e eritrocitário ($p<0,05$).

A Figura 2 ilustra a distribuição percentual das mulheres obesas e grupo controle, de acordo com os valores de referência do cobre plasmático. Todas as mulheres do grupo controle e 93,20% das mulheres obesas que participaram desse estudo apresentaram concentração plasmática de cobre adequada ($p=0,117$). Ao avaliar a concentração eritrocitária de cobre, observou-se que todas as mulheres do grupo controle e as mulheres obesas que apresentaram concentrações adequadas.

Na perspectiva de um melhor entendimento dos resultados encontrados, conduziu-se análise de correlação entre os pa-

râmetros bioquímicos do cobre e marcador do estresse oxidativo (Tabela 2), porém não foi verificada correlação significativa ($p>0,05$).

DISCUSSÃO

Este estudo avaliou as concentrações plasmáticas e eritrocitárias de cobre, bem como investigou a existência de correlação entre essas variáveis e marcador de peroxidação lipídica em mulheres obesas. No presente estudo, as mulheres obesas apresentaram concentrações plasmáticas e eritrocitárias de cobre inferiores ao grupo controle.

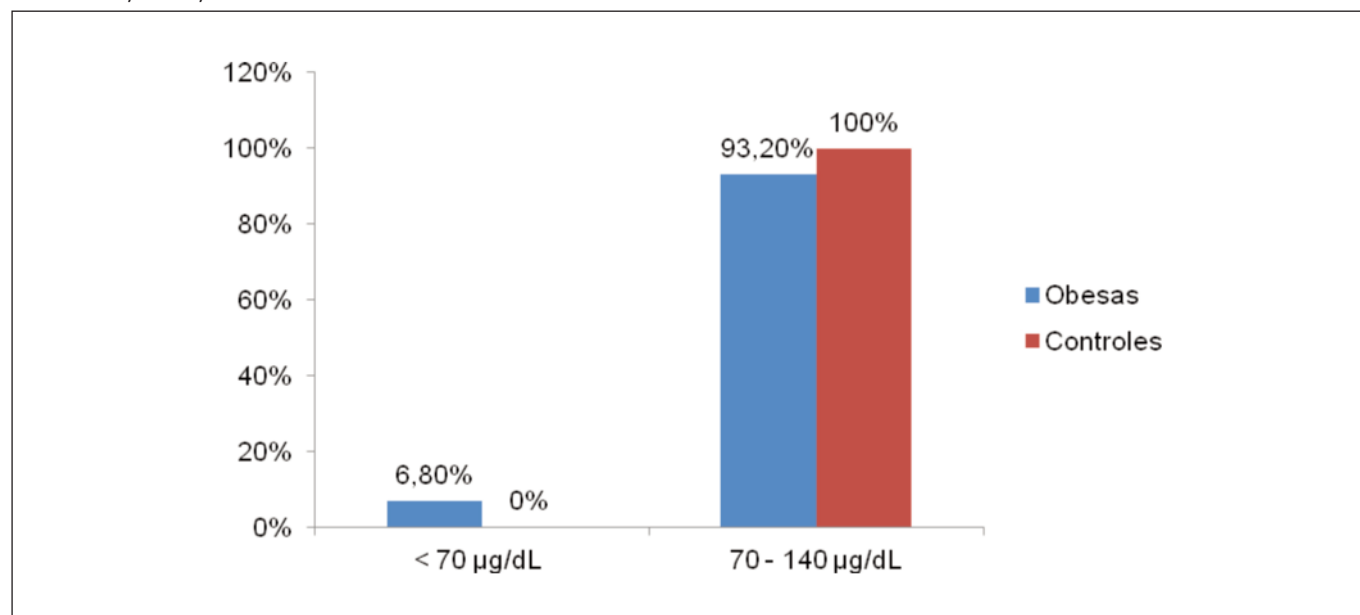
Alguns fatores podem ser considerados importantes para os valores reduzidos de cobre no plasma do grupo caso, em relação ao grupo controle, avaliados nesse estudo. Destaca-se que a alimentação consumida pela população obesa apresenta limitações, sobretudo em relação às fontes de cobre, o que pode ter contribuído para as concentrações baixas encontradas desse mineral¹¹.

Tabela 1. Valores médios e desvios padrão das concentrações plasmáticas e eritrocitárias de cobre das mulheres obesas e grupo controle. Teresina-PI, Brasil, 2017.

Parâmetros	Obesas (n=44) Média $\pm$ DP	Controle (n=45) Média $\pm$ DP	p
Cu Plasmático ($\mu\text{g/dL}$)	90,65 $\pm$ 14,70	98,78 $\pm$ 7,80*	0,002
Cu Eritrocitário ($\mu\text{g/dL}$)	66,99 $\pm$ 4,52	79,14 $\pm$ 6,99*	<0,001

*Valores significativamente diferentes entre as mulheres obesas e grupo controle, teste *t de Student* ($p<0,05$). Valores de referências: Cu Plasmático = 70-140 $\mu\text{g/dL}$ (YOUNG, 1987); Cu Eritrocitário = 30,5-132,2 $\mu\text{g/dL}$ (VITOUX, ARNAUD e CHAPPUIS, 1999). Cu = Cobre.

Figura 2. Distribuição percentual das mulheres obesas e grupo controle, segundo os valores de referência de cobre plasmático. Teresina-PI, Brasil, 2017.



Obesas (n=44) e Controle (n=45). Teste exato de Fisher ($p=0,117$). Valores de referência: Cobre Plasmático = 70-140 $\mu\text{g/dL}$ (YOUNG, 1987).

Tabela 2. Análise de correlação linear simples entre os parâmetros bioquímicos do cobre e marcador do estresse oxidativo das mulheres obesas e grupo controle. Teresina-PI, Brasil, 2017.

Parâmetros	Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (nmol/ml)			
	Obesas (n=44)		Controle (n=45)	
	r	p	r	p
Cu plasmático	-0,137	0,376	-0,208	0,171
Cu eritrocitário	0,105	0,498	-0,015	0,920

Correlação de Pearson ($p > 0,05$). Cu = Cobre.

Sobre as concentrações reduzidas de cobre no plasma do grupo caso, ressalta-se que esse parâmetro é considerado um marcador de rápida variação, com elevada labilidade. No entanto, os valores de cobre encontrados nos eritrócitos, marcador de meia vida mais longa, também estavam baixos. Além disso, as variações de eritrócitos ocorrem mais lentamente, enquanto que o cobre plasmático pode ser influenciado por diversos fatores. Na perspectiva de fundamentar esse resultado, alguns pesquisadores consideram que as concentrações de cobre reduzidas no plasma podem ser resultante de um acúmulo desse nutriente no tecido adiposo e nos hepatócitos¹².

Nesse sentido, destaca-se que o aumento da gordura corporal induz a manifestação da inflamação crônica de baixo grau o que promove a expressão de genes codificantes para a proteína metalotioneína e nos hepatócitos e estas por sua vez, quelam metais no fígado e nos adipócitos, a exemplo do cobre, contribuindo para alterações nas concentrações desse oligoelemento¹³⁻¹⁴.

Com relação aos resultados do marcador da peroxidação lipídica, pôde-se verificar que as mulheres obesas tinham valores desse parâmetro superiores ao grupo controle. Sobre tal resultado, ressalta-se que o excesso de tecido adiposo induz a produção de radicais livres, seja pela oxidação mitocondrial e peroxisomal de ácidos graxos ou pelo excesso de consumo de oxigênio. Além disso, dietas ricas em lipídeos também são capazes de gerar espécies reativas de oxigênio por alterar o metabolismo oxidativo¹⁵.

Na perspectiva de um melhor entendimento dos resultados encontrados, conduziu-se uma análise de correlação entre as concentrações plasmáticas e eritrocitárias de cobre e marcador da peroxidação lipídica. Entretanto, os dados do presente estudo, não evidenciaram resultado significativo.

Alguns aspectos podem justificar a inexistência de correlação entre as concentrações de cobre e as substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico, a exemplo do fato do cobre ser um antioxidante indireto, atuando como cofator da enzima superóxido dismutase. Portanto, a redução nas concentrações de cobre encontradas nas mulheres obesas parece não ter comprometido a atividade da enzima superóxido dismutase e, consequente-

mente, não influenciou as concentrações das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico, já que tal enzima teve sua atividade efetiva, embora sob reduzidas concentrações do mineral.

Diante da complexidade das ações do cobre como nutriente antioxidante e anti-inflamatório, torna-se evidente a necessidade da realização de mais estudos sobre o tema a fim de um melhor entendimento acerca do comportamento metabólico desse nutriente na patogênese da obesidade.

CONCLUSÕES

As mulheres obesas avaliadas apresentam concentrações reduzidas de cobre nos componentes sanguíneos. No entanto, o estudo não evidencia correlação significativa entre as concentrações de cobre no plasma e eritrócitos e o marcador de peroxidação lipídica, sugerindo que esse mineral parece não exercer influência sobre o estresse oxidativo nessas mulheres.

REFERÊNCIAS

1. Hruby A, Hu FB. The Epidemiology of Obesity: A Big Picture. *Pharmacoeconomics*. 2015; 33(7): 673–689.
2. Molica F, Morel S, Kwak BR, Rohner-Jeanrenaud F, Steffens S. Adipokines at the crossroad between obesity and cardiovascular disease. *Thromb Haemost*. 2015; 113(2):1-14.
3. Nita M, Grzybowski A. The Role of the Reactive Oxygen Species and Oxidative Stress in the Pathomechanism of the Age-Related Ocular Diseases and Other Pathologies of the Anterior and Posterior Eye Segments in Adults. *Oxid Med Cell Longev*. 2016; 2016: 3164734.
4. Patlevič P, Vašková J, Švorc P Jr, Vaško L, Švorc P. Reactive oxygen species and antioxidant defense in human gastrointestinal diseases. *Integr Med Res*. 2016; 5(4):250-258.
5. World Health Organization. Obesity: Preventing and managing the global epidemic. Technical report series, Geneva, n. 894, p. 9, 2000.
6. World Health Organization. Waist Circumference and Waist-Hip Ratio: Report of a WHO Expert Consultation. Geneva, 2008.
7. Błazewicz A, Klatka M, Astel A, Partyka M, Kocjan R. Differences in trace metal concentrations (Co, Cu, Fe, Mn, Zn, Cd, and Ni) in

- whole blood, plasma, and urine of obese and non-obese children. *Biol Trace Elem Res.* 2013; 155(2):190–200.
8. Harrington JM, Young DJ, Essader AS, Sumner SJ, Levine KE. Analysis of human serum and whole blood for mineral content by ICP-MS and ICP-OES: development of a mineralomics method. *Biol Trace Elem Res.* 2014; 160(1):132–42.
 9. Niedzielski P, Siepak M. Analytical methods for determining arsenic, antimony and selenium in environmental samples. *Pol J Environ Stud.* 2003; 12(6):653–67.
 10. Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. Assay for lipid peroxidation in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Annal. Biochem.* 1979; 95:351–8.
 11. Kiess W, Galler A, Reich A. Clinical aspects of obesity in childhood and adolescence. *Obes Rev.* 2001; 2:29–36.
 12. Antonucci L, Porcu C, Iannucci G, Balsano C, Barbaro B. Non-Alcoholic Fatty Liver Disease and Nutritional Implications: Special Focus on Copper. *Nutrients.* 2017; 9(10): 1137.
 13. Cayir A, Doneray H, Kurt N, Orbak Z, Kaya A, Turan MI,. Thyroid functions and trace elements in pediatric patients with exogenous obesity. *Biol Trace Elem Res.* 2014; 157(2):95–100.
 14. Niranjana G; Anitha D; Srinivasan AR; Velu VK; Venkatesh C; Babu MS et al. Association of inflammatory sialoproteins, lipid peroxides and serum magnesium levels with cardiometabolic risk factors in obese children of South Indian population. *Int J Biomed Sci.* 2014; 10(2):118–23.
 15. Phaniendra A, Jestadi DB, Periyasamy L. Free Radicals: Properties, Sources, Targets, and Their Implication in Various Diseases. *Indian J Clin Biochem.* 2015; 30(1): 11–26.