

MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO E DO DESPORTO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO NORTE
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE

**ALTERAÇÕES NO METABOLISMO DE ZINCO
RELACIONADAS AO ENVELHECIMENTO**

Anna Cecília Queiroz de Medeiros

NATAL – RN

2008

ANNA CECÍLIA QUEIROZ DE MEDEIROS

**ALTERAÇÕES NO METABOLISMO DE ZINCO
RELACIONADAS AO ENVELHECIMENTO**

*Dissertação apresentada
ao Programa de Pós-
Graduação em Ciências da
Saúde da UFRN, como
requisito final para obtenção
do grau de Mestre em
Ciências da Saúde..*

Orientador(a): Prof. Lucia de Fátima Campos Pedrosa Schwarzschild

NATAL – RN
2008

ANNA CECÍLIA QUEIROZ DE MEDEIROS

**ALTERAÇÕES NO METABOLISMO DE ZINCO RELACIONADAS
AO ENVELHECIMENTO.**

Aprovada em 20 de junho de 2008.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dra. Lucia de Fátima Campos Pedrosa Schwarzschild
Prof. Orientador – Presidente UFRN

Prof. Dra. Nadir Nogueira do Nascimento
Membro Titular - UFPI

Prof. Dr. Ricardo Oliveira Guerra
Membro Titular - UFRN

“...porque nós estamos em Suas mãos, nós e nossos discursos, toda a nossa inteligência e nossa habilidade...”

(Sabedoria, 7:16)

Àquele que é minha força, meu amparo e alegria.

Obrigada meu Deus.

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, pelo caminho todo até aqui percorrido, porque eu sei que vocês são definitivamente do meu time, em todas as horas, para o que der e vier.

Para Sérgio e Regina, que nós sempre sejamos a sociedade do anel.

À minha mestra orientadora, Lucia, por não me deixar esmorecer, nem perder o foco, mesmo quando eu já estava “abusando”, obrigada MESMO!

À pequena grande gigante Débora, uma das minhas anãs favoritas no mundo todo, por todas as possibilidades, pela mãozona nas análises, que elas ainda venham por muitos anos!

Obrigada a Cícera, ao meu querido amigo B e a Maricotinha, pelo apoio, força, e por sempre aquecerem o meu coração e se fazerem presentes.

A todo esse povo do Distrito Sul, minha mui estimada Lúcia Rêgo, Letícia, os sempre alerta Hélio e Rogério (altos papos), aos contadores de mentira profissionais: Geraldo, Yeik, Flávio, Damião e Fábios, todos os Diretores, Administradores e Servidores, pelas oportunidades e aprendizado.

Ao pessoal do LabMult, em especial Rand, Freire, UliBruno, Teresa, Felipe, Marcela e Profa. Graça, pela convivência, conversas, metodologias, aniversários e pela descoberta da anti-catalase.

Ao professor Kênio e Vanessa, pioneiros no trabalho com esses dados!

Obrigada a todos os meus colegas, de disciplina e de bancada, em especial a Niéthia, a gente rala, mas se diverte um bocado!

As minhas amigas moscovitas, sempre presentes, incentivando e dando força quando necessário, CrisCris, Iraeda e Cynthia!

A todas as mega colaboradoras bolsistas, Adriana, CrisCris, Lolinha, DanisMari, Diana, Aline Nara.... vocês foram tudo, meninas!

SUMÁRIO

	Páginas
1- INTRODUÇÃO	10
2- REVISÃO DE LITERATURA	12
2.1 – Zinco: aspectos metabólicos, fisiológicos e de avaliação nutricional	12
2.1.1 - Zinco Plasmático e Capacidade de Ligação do Zinco a Proteína Plasmática (CLPPZn)	13
2.2 – Estudos sobre Zinco em Idosos	15
3- ARTIGO PUBLICADO	17
4- COMENTÁRIOS, CRÍTICAS E SUGESTÕES.	35
5- APÊNDICE	39
6- ANEXOS	45
7-REFERÊNCIAS	49

RESUMO

ALTERAÇÕES NO METABOLISMO DE ZINCO RELACIONADAS AO ENVELHECIMENTO

Embora muitos estudos apontem alterações nas concentrações orgânicas de zinco em pacientes idosos, os mecanismos pelos quais o envelhecimento poderia implicar em mudanças no metabolismo deste nutriente ainda permanecem obscuros. Assim, procuramos avaliar as mudanças relativas ao zinco plasmático, Capacidade de Ligação do Zinco à Proteína Plasmática (CLPPZn) e Índice de Saturação (IS). As análises de zinco foram realizadas por espectrofotometria de absorção atômica, comparando idosos e adultos jovens. Foi encontrada diferença estaticamente significativa ($p < 0,001$), entre os dois grupos, em relação ao zinco plasmático e IS, sendo que a CLPPZn não diferiu entre os idosos e adultos jovens. Corroborando este resultado, foi demonstrado que, no grupo jovem as variações na CLPPZn são explicadas em 76% ($R^2 = 0,760$) pelas variações no zinco plasmático e IS. Já no grupo de idosos esta medida diminui para 30,5% ($R^2 = 0,305$). Concluímos então que o envelhecimento pode ser um fator associado às mudanças nos mecanismos de controle e homeostase do zinco, alterando inclusive padrões de resposta relativos a CLPPZn e demais indicadores do estado nutricional relativo ao zinco.

Palavras-chave: zinco, proteína plasmática, idosos

ABSTRACT

METABOLIC ALTERATIONS OF ZINC RELATED TO AGING

Although many studies point to alterations in the organic concentrations of zinc in elderly patients, the mechanisms by which aging might cause changes in the metabolism of this nutrient remain unclear. Thus, we assessed the changes in plasma zinc, Zinc Binding Capacity to Plasma Protein (ZnBCPP) and Saturation Index (SI), comparing elderly individuals and young adults. The zinc analyses were performed by atomic absorption spectrophotometry. A statistically significant difference ($p < 0.001$) was found between the two groups, in relation to plasma zinc and SI, but the ZnBCPP did not differ between the younger and older subjects. In agreement with this result, it was shown in the young group that 76% ($R^2 = 0.760$) of the ZnBCPP variations are explained by the variations in plasma zinc and SI. In the elderly group this measure decreased to 30.5% ($R^2 = 0.305$). We conclude, therefore, that aging may be a factor associated to changes in control mechanisms and in zinc homeostasis, and could even alter ZnBCPP response patterns and other zinc-related indicators of nutritional status.

Key words: zinc, plasmatic protein, elderly

1- INTRODUÇÃO

Considerando os micronutrientes, o zinco se destaca pelas diversas funções elucidadas por mecanismos moleculares até efeitos sistêmicos característicos. O zinco tem capacidade de atuar como cofator em processos enzimáticos o que explica sua essencialidade para o crescimento e desenvolvimento, integridade da pele, função neurológica, cicatrização de feridas e imunocompetência, além de participar do metabolismo de macronutrientes (EXPERT GROUP... 2002).

Por causa desta ação em todo organismo, mesmo diante de uma deficiência leve de zinco, já é possível constatar o surgimento e agravamento de problemas de saúde relacionados com o prejuízo destas funções (ANDERSON e ALLEN, 1999).

Classicamente, os idosos constituem um grupo de risco nutricional para a deficiência de zinco, como resultado de múltiplos fatores fisiológicos, sociais, psicológicos e econômicos, dentre os quais podemos citar o uso de múltiplos medicamentos, a presença de doenças crônicas, a depressão e a recusa da alimentação (CESAR, WADA e BORGES, 2005).

Estudos americanos e brasileiros têm mostrado que a ingestão média de zinco começa a diminuir a partir dos 51 anos de idade, decaindo ainda mais a partir dos 71 anos, sendo que o consumo inadequado pode atingir até 80% dos idosos em algumas populações geriátricas (BRIEFEL et al, 2000; PASSERO e MOREIRA, 2003).

A especulação consiste em explicar os baixos teores de zinco plasmático em idosos com ingestão adequada deste nutriente. Nesse sentido,

têm sido sugerido que, independente do consumo, haveria uma diminuição nas concentrações de zinco plasmático/sérico durante o processo de envelhecimento. A provável causa relaciona-se com alterações na quantidade e tipologia das células do sistema imunológico e maior vulnerabilidade a algumas doenças, em especial a degeneração macular, sugerindo alterações no metabolismo normal deste mineral (FAIRWEATHER-TAIT, HARVEY e FORD, 2008).

Um dos obstáculos para elucidar este problema é a falta de um indicador sensível para detectar a deficiência moderada do zinco e o fato de a maioria dos trabalhos avaliarem apenas a concentração do zinco plasmático, que, isoladamente, é considerado pouco sensível para avaliar o estado do zinco no organismo, além de estar sujeito a variações circadianas (WOOD, 2000; HAMBIDGE, 2000).

Portanto, para auxiliar na interpretação dos parâmetros relacionados ao estado do zinco corporal, sugere-se a técnica da capacidade de ligação do zinco a proteína plasmática (CLPPZn), um biomarcador que sinaliza aspectos metabólicos desse mineral no organismo (FOOTE e DELVES, 1984; KIILERICH e CHRISTIANSEN, 1986; ARGEMI et al, 1988; TURULL et al, 1994; CUNNINGHAM et al, 1994).

Este estudo foi delineado com base nestas questões e diante da escassez de trabalhos com idosos saudáveis para identificação das “Alterações no metabolismo de zinco relacionadas ao envelhecimento”.

2- REVISÃO DA LITERATURA

2.1 – Zinco: aspectos metabólicos, fisiológicos e de avaliação nutricional

O zinco é o mineral intracelular mais abundante do organismo, podendo atuar em funções catalíticas, reguladoras e estruturais. Mais de 200 enzimas dependentes de zinco já foram identificadas em sistemas biológicos. (KING e KEEN, 1998; KING, SHAMES e WOODHOUSE, 2000).

Uma maior percepção da importância do zinco ocorreu com a compreensão do mecanismo dos “zinc fingers”, que atuam como um elemento indispensável no mecanismo de reparo de proteínas, transcrição e expressão genética. (SOLOMONS, 1999; HAMBIDGE, 2000; CABREIRO et al., 2008).

A carência de zinco afeta todos os tecidos e sistemas que possuem funções metabólicas zinco-dependentes, sendo os mais prejudicados a pele, o sistema gastrointestinal, nervoso, imune, esquelético e reprodutor (HAMBIDGE, 2000; PRASAD, 2003).

Entretanto, enquanto o quadro da clássica depleção grave de zinco já foi bem descrito, as características da deficiência marginal (moderada a leve) de zinco têm sido mais difíceis de identificar. Uma boa caracterização desta síndrome ainda não foi estabelecida ou verificada até o momento (ANDERSON e ALLEN, 1999).

A despeito da importância de uma provável prevalência da deficiência marginal de zinco no espectro da saúde pública, ainda não há um consenso sobre os métodos utilizados para mensurar os níveis de zinco no organismo. (FAIRWEATHER-TAIT, HARVEY e FORD, 2008).

2.1.1. – Zinco Plasmático e Capacidade de Ligação do Zinco a Proteína Plasmática (CLPPZn)

O zinco plasmático, embora represente menos de 0,1% do total deste mineral no organismo, é considerado um indicador biológico importante das reservas orgânicas. Entretanto, a medida isolada de zinco plasmático é geralmente considerada um indicador pouco sensível para diagnosticar a deficiência marginal de zinco, especialmente na população idosa (KING, SHAMES e WOODHOUSE, 2000; WOOD, 2000; PEPERSACK et al, 2001).

Estudos experimentais de depleção sugerem que as mudanças na resposta imune zinco dependente ocorrem antes que a redução da concentração plasmática do zinco seja aparente (MOCCHEGIANI et al., 2006; FAO-WHO..., 1998).

As dificuldades na mensuração do zinco são parcialmente justificadas pelo pouco conhecimento que se tem sobre o metabolismo do zinco em diferentes estados fisiológicos. Uma melhor compreensão da distribuição/redistribuição do zinco corporal e seu significado metabólico é essencial para avaliar e propor métodos que quantifiquem o zinco corporal (EL-KHOURY, 1991).

Nesse sentido, tem sido sugerida a determinação da capacidade de ligação do zinco com proteínas plasmáticas/séricas para tentar determinar estados moderados de deficiência de zinco (TURULL et al, 1994).

Existem, até o momento, poucos trabalhos utilizando este método para avaliar o estado de zinco e a maioria deles foi realizado em gestantes e recém-nascidos.

O zinco sérico encontra-se quase que totalmente ligado a proteínas, primariamente a albumina e α_2 - macroglobulina; e em menor quantidade a aminoácidos e transferrina. Em indivíduos saudáveis a maior parte do zinco sérico total está ligado a albumina e uma menor quantidade liga-se a α_2 - macroglobulina. Isso quer dizer que a mensuração da albumina sérica e do zinco sérico total pode ser usada para estimar uma fração fisiologicamente importante de zinco sérico em pacientes saudáveis (KIILLERICH e CHRISTIANSEN, 1986).

Em condições clínicas mais estáveis, quase todo o zinco plasmático se encontra ligado a proteínas, e as mudanças na concentração acontecem em resposta a fatores independentes da disponibilidade deste metal (FOOTE e DELVES, 1984). Inclusive, alguns trabalhos têm sugerido, em população idosa, a dosagem da albumina como forte preditor da quantidade de zinco no organismo (MARCELLINI et al., 2007).

O método para determinar a capacidade de ligação do zinco é baseado na adição, em soro ou plasma, de uma quantidade conhecida de íons de zinco para saturar as proteínas carreadoras deste metal. O zinco não-residual ou zinco livre (não ligado a proteínas) é determinado por meio de uma reação com hidroxicarbonato de magnésio. Este sal tem uma solubilidade relativamente alta. Entretanto, a solubilidade do produto desta reação, o hidróxido de zinco, é muito baixa, assim ele imediatamente precipita e, mesmo que a reação seja deslocada em sentido inverso, continua acontecendo a precipitação deste composto. Este método permite uma total garantia que todo o zinco que não estivesse ligado a proteína seja eliminado (ou quelado) quando adicionado um excesso de magnésio carbonato básico (ARGEMI et al, 1988).

A técnica da capacidade de ligação do zinco com a proteína plasmática/sérica se mostra mais confiável que a simples mensuração do zinco plasmático/sérico para determinar o status do zinco no organismo e detectar a deficiência deste mineral (FOOTE e DELVES,1984; KIILERICH e CHRISTIANSEN, 1986; ARGEMI et al, 1988; TURULL et al, 1994; CUNNINGHAM et al, 1994).

Neste contexto, podemos citar os idosos, considerando ainda que, segundo Charlton (2002), o zinco é um nutriente indispensável para otimizar o estado de saúde em idosos.

2.2 – Estudos sobre Zinco em Idosos

Na terceira idade a necessidade do corpo por alguns nutrientes, dentre os quais o zinco, continua igual a da idade adulta, enquanto que a habilidade de regulação do *pool* corporal diminui, bem como a ingestão. Por esta razão, os idosos são um grupo particularmente vulnerável a deficiência de zinco (GOLDEN, HINERFELD e MELOV, 2002).

Estudos clínicos e bioquímicos têm mostrado que a deficiência marginal de zinco é comum na população idosa (MINISTRY OF HEALTH,1996).

Baixas concentrações de zinco plasmático são encontradas em 2 a 27% da população idosa. De fato, a suplementação com zinco tem resultado em uma melhora na função imune e diminuição na progressão da degeneração macular em idosos (UCIECHOWSKI et al, 2008; SOUTER e KELLER, 2000).

Justamente por seu importante papel na manutenção do equilíbrio homeostático do metabolismo, a diminuição nas concentrações plasmáticas de zinco, encontradas em idosos, parecem estar positivamente relacionadas com o aumento do estresse oxidativo e o aumento da incidência de doenças

crônico-degenerativas, como aterosclerose, doença inflamatória e doenças oculares. (SAVARINO et al, 2000; GOLDEN, HINERFELD e MELOV, 2002; CABREIRO et al, 2008).

Contrariamente, Ravaglia et al (2000) e Jong et al (2001), ao analisarem uma população de idosos (n=44), na Itália e na Nova Zelândia (n=108), encontraram concentrações normais de zinco plasmático, embora alguns sinais clínicos sugerissem uma depleção leve.

As alterações relacionadas as mudanças metabólicas de zinco inerentes ao processo de envelhecimento sugerem além da diminuição da concentração plasmática de zinco, efeitos relativos a redistribuição entre carreadores protéicos plasmáticos e uma menor capacidade de captação e utilização tecidual (FAIRWEATHER-TAIT, HARVEY e FORD, 2008; PRASAD, 2008; MOCCHEGIANI et al., 2006).

Entretanto, nenhuma das hipóteses conseguiu ainda explicar totalmente as alterações no metabolismo de zinco relacionadas ao envelhecimento e/ou qual sua real magnitude e importância no organismo humano.

3- ARTIGO PUBLICADO

REVISTA CHILENA DE NUTRICION



Santiago, 29 de Mayo de 2008

Profesora

Anna Cecília Queiroz de Medeiros

Centro de Ciências de Saúde

Programa de pós-graduação em Ciências da Saúde

Universidade Federal do Rio Grande do Norte – UFRN

Brasil

Estimada Prof. Queiroz:

La presente es para comunicarle que el trabajo titulado “Metabolic alterations of zinc related to aging”, de los autores Anna Cecília Queiroz de M, Maria das Graças Almeida, Vanessa Teixeira de Lima O, Débora Azevedo N, Kênio Costa Lima, Lorena dos Santos T, que Ud. envió para ser publicado en la Revista Chilena de Nutrición, ha sido aceptado para publicación.

Su interesante trabajo aparecerá en el próximo número de la Revista , que corresponde al volumen 35, número 2 de 2008.

Agradeciendo el interés por publicar en nuestra revista, le saluda cordialmente,

Dr. Santiago Muzzo B.

Editor

METABOLIC ALTERATIONS OF ZINC RELATED TO AGING

Anna Cecília Queiroz de Medeiros

Programa de pós-graduação em Ciências da Saúde da Universidade Federal do
Rio Grande do Norte.

Maria das Graças Almeida

Departamento de Toxicologia, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do
Rio Grande do Norte.

Vanessa Teixeira de Lima Oliveira

Programa de pós-graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal
do Rio Grande do Norte.

Débora Azevedo Nascimento

Programa de pós-graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal
do Rio Grande do Norte.

Kênio Costa Lima

Departamento de Odontologia da Universidade Federal do Rio Grande do Norte.

Lorena dos Santos Tinoco

Curso de Nutrição da Universidade Federal do Rio Grande do Norte.

Lucia de Fátima Campos Pedrosa

Departamento de Nutrição da Universidade Federal do Rio Grande do Norte.

Autor Principal

Anna Cecília Queiroz de Medeiros.

Co-autores

Maria das Graças Almeida

Vanessa Teixeira de Lima Oliveira

Débora Azevedo Nascimento

Kênio Costa Lima

Lorena dos Santos Tinoco

Lucia de Fátima Campos Pedrosa

ABSTRACT

Although many studies point to alterations in the organic concentrations of zinc in elderly patients, the mechanisms by which aging might cause changes in the metabolism of this nutrient remain unclear. Thus, we assessed the changes in plasma zinc, Zinc Binding Capacity to Plasma Protein (ZnBCPP) and Saturation Index (SI), comparing elderly individuals and young adults. The zinc analyses were performed by atomic absorption spectrophotometry. A statistically significant difference ($p < 0.001$) was found between the two groups, in relation to plasma zinc and SI, but the ZnBCPP did not differ between the younger and older subjects. In agreement with this result, it was shown in the young group that 76% ($R^2 = 0.760$) of the ZnBCPP variations are explained by the variations in plasma zinc and SI. In the elderly group this measure decreased to 30.5% ($R^2 = 0.305$). We conclude, therefore, that aging may be a factor associated to changes in control mechanisms and in zinc homeostasis, and could even alter ZnBCPP response patterns and other zinc-related indicators of nutritional status.

RESUMEN

A pesar de que muchos estudios apuntan a las alteraciones en las concentraciones orgánicas de zinc en zinc en pacientes mayores, los mecanismos por los cuales el envejecimiento podría implicar en cambios en el metabolismo de esta nutriente, todavía permanecen oscuros. Buscamos evaluar los cambios relativos al zinc plasmático, Capacidad de Ligación del Zinc a la Proteína Plasmática (ZnBCPP) e índice de Saturación (SI). Los análisis de Zinc fueron realizados por espectrofotometría de absorción atómica, comparando personas mayores y adultos jóvenes. Una diferencia fue encontrada estáticamente ($p < 0,001$), entre los dos grupos, en relación al zinc plasmático e SI, siendo que la ZnBCPP no cambió entre los younger y olders. Constatando este resultado, fue demostrado que en el grupo de jóvenes las variaciones en ZnBCPP son explicadas en 76% ($R^2 = 0,760$) por las variaciones en el Zinc plasmático e SI. En el grupo de los mayores esta medida disminuye para 30,5% ($R^2 = 0,305$). Concluimos entonces que el envejecimiento puede ser un factor asociado a los cambios en los mecanismos de control y homeostase del zinc, alternando incluso patrones de respuesta relativos a ZnBCPP y algunos otros indicadores del estado nutricional relativo al Zinc.

INTRODUCTION

Zinc is indispensable to the organism, owing to the various biological functions it exercises in its role as a biochemical, regulating and structural agent. Even when there is a slight zinc deficiency, it is possible to detect consequences such as greater susceptibility to infection and cicatrization problems (Anderson and Allen, 1999).

The elderly are at risk of zinc deficiency, owing to their low dietary ingestion, lack of appetite, and likely use of medication. Moreover, there are indications that, although the zinc requirements of the elderly are similar to those of adulthood, the capacity to regulate the body pool is diminished (Roberts and Hays, 1999).

Although there is much evidence that zinc deficiency, even to a slight degree, is prevalent worldwide, particularly in specific population groups, such as the elderly, a totally reliable method to assess it has yet to be established (LOWE, 2005).

Most studies, especially epidemiological ones, use plasma zinc as the measuring parameter. However, despite the convenience, this indicator is not considered to be sensitive enough to diagnose zinc status in the organism, since it is subject to circadian variations (Wood, 2000).

Therefore, more than one parameter must be used to perform this diagnosis. One of these is the Zinc Binding Capacity to Plasma Protein

In humans, serum zinc is nearly totally protein-bound, primarily to albumin and α_2 - macroglobulin; and to a lesser extent to amino acids and transferrin. In healthy individuals it has been observed that the greater part of total serum zinc is bound to albumin and that only a small amount is bound to α_2 - macroglobulin. This means that the measure of serum albumin and of total serum zinc can be used to estimate a

physiologically important fraction of serum zinc in healthy patients (KIILERICH and CHRITIANSEN, 1986).

In some situations, zinc binding with proteins is a result of the plasma zinc transfer to intracellular sites, which normally occurs after surgery or similar stressful events. Under more stable clinical conditions, nearly all the plasma zinc is bound to proteins, and changes in concentration occur in response to factors unrelated to the availability of this metal (FOOTE and DELVES, 1984).

The method that determines zinc-binding capacity is based on addition, in serum or plasma, of a known amount of zinc ions to saturate the protein carriers of this metal. Non-residual zinc or free zinc (not protein-bound) is determined by a reaction with magnesium hydroxycarbonate, which has relatively high solubility. However, the product of this reaction, zinc hydroxide, has low solubility, precipitates immediately and, even if the reaction is displaced in the inverse direction, this compound continues to precipitate. This method ensures, however, that all the non protein-bound zinc is eliminated (or quelated) when there is excessive basic magnesium carbonate (ARGEMI et al., 1988).

Some authors have reported that the Zinc Binding Capacity to Plasma Protein technique or the one using serum is useful in determining moderate states of zinc deficiency and is more reliable than the simple measuring of zinc in these compartments (CUNNINGHAM et al., 1994; TURULL et al., 1994; ARGEMI et al., 1988).

Thus, the aim of this study was to assess plasma zinc and ZnBCPP in adults and elderly individuals, to determine zinc-related changes in nutritional status caused by the aging process.

MATERIAL AND METHODS

This cross-sectional study was conducted with a group of elderly subjects older than 60 years of age, of both sexes ($n = 14$); and the other was composed of university undergraduates ($n = 57$) from the city of Natal, Brazil. The subjects were chosen randomly from those who declared themselves healthy and who had no history of chronic diseases and/or health problems in the previous year. The elderly underwent the Mini-Mental State Examination. The following exclusion criteria were established: the presence of gastrointestinal disorders, obesity or current malnutrition, chronic and/or acute diseases and the use of vitamin-mineral supplementation or other medication that might interfere in normal zinc metabolism. The study was approved by the Research Ethics Committee of the Federal University of Rio Grande do Norte (UFRN).

The zinc plasma dosage was calculated by atomic absorption spectrophotometry according to the method proposed by Rodriguez et al. (1989), and the Zinc Binding Capacity to Plasma Protein (ZnBCPP) was determined using methodology standardized by Argemi et al. (1988) and Cunningham et al. (1994), modified by Pedrosa et al. (2000).

Two 0.5 mL aliquots of plasma were removed and mixed in equal volume of a standard zinc solution of 10 mcg Zn/mL. The addition, in serum or in plasma, of a known amount of zinc ions, aimed at saturating the carrier proteins of this metal. The plasma proteins were then precipitated, with the addition of 85 mg of magnesium hydroxycarbonate and 4 mL of ultrapure water (MILLI-Q), which enabled the quantification of the free zinc (non protein-bound). After centrifugation, the amount of zinc in the supernatant was analyzed by atomic absorption spectrophotometry (SPECTRA VARIAN AA-200). The results were expressed in $\mu\text{gZn/g}$ of plasma protein.

The saturation index was calculated according to Arcasoy et al. (2001), using the %SI formula (plasma Zn/ZnBCPP x 100).

The plasma proteins were measured colorimetrically with the BioSystems total protein kit.

To calculate Body Mass Index (BMI) we measured weight on a digital scale and height with a non-extendable tape measure.

Dietary zinc was assessed in the older group by a 3-day food record and in the younger group by a 24-hour record, and all data were subsequently analyzed with the Virtual Nutri program, version 1.0.

Student's t-test was used to analyze the independent samples and Pearson's correlation coefficient between the dependent variables was calculated considering a confidence interval of 95%. The linear regression model comprised backward selection between the plasma zinc variables, zinc binding capacity to plasma protein and saturation index, using SPSS software.

RESULTS AND DISCUSSION

Table 1 shows that the assessed groups had normal BMI and total protein values. The volunteers of this study, in general, had a good socioeconomic level, that is, they had access to health services and nutritional food. This situation is reflected in the concentration of plasma proteins, in which no statistical difference was found between the younger and older groups.

Plasma protein concentration is one of the parameters used to obtain ZnBCPP, whose alterations may influence this concentration. Since both groups had normal concentrations values with no significant difference between them, this result suggests that this variable had a low impact on the other results of the study.

(Table 1)

To assess the zinc x plasma protein relation, we performed a study that evaluated zinc distribution after acute myocardial infarction. An excellent correlation was observed between total zinc and protein-bound zinc, but practically no relation was found between zinc and its plasma carriers (albumin and α -2-macroglobulin) (GOMEZ, 2000). The author suggests that the relation between zinc and the plasma proteins is established by some additional factor and not only as a function of the amount of mineral in the organism and the presence of free carriers.

We suggest, therefore, that the aging process is one of the passive factors influencing this relation and the metabolic regulation of zinc.

Jong et al. (2001) assessed a cohort of New Zealand women, whose plasma protein levels were normal, and found low plasma zinc values among the elderly and no association between this zinc parameter and the ingestion of the mineral. A similar situation was found by PEPERSACK et al (2001), who evaluated elderly hospitalized patients, and also found no relation between low plasma zinc levels and the amount of plasma proteins. These results reinforce the need for other markers to better interpret and/or assess the zinc x plasma protein relation.

Table 2 shows the group differences in zinc concentration and in the saturation of its carriers, which seems to indicate changes in the metabolism of this mineral, likely related to age.

(Table 2)

Although the plasma zinc values of the two groups were in the normal range, which is from 70 to 120 mcg Zn/dL (Iyvengar and Woyttiez, 1988), there was a statistical difference between the older and younger subjects, a finding also observed in plasma protein saturation, which was lower in the elderly. That is, there was less zinc

bound to this group and therefore more free carriers, theoretically passive of being occupied by a larger amount of the mineral.

There was no statistical difference between the groups in relation to ZnBCPP, although it was higher in the elderly group. However, in the context formed by the other indicators, with plasma zinc and the saturation index differing statistically between the groups, a larger ZnBCPP value was expected than that found in the elderly subjects.

This being so, no proportional increase in ZnBCPP was found as a response to plasma zinc and the saturation index.

The dietary ingestion of zinc/day was 9.73 ± 0.91 mg in the Younger group and 9.41 ± 1.0 in the Older group, without statistically significant differences between them ($p = 0.8642$). Thus, we can deduce that the amount of dietary zinc has no effect on the differences found between the groups, in terms of plasma zinc and saturation index.

We can infer, therefore, that the Older group had less “desire” and/or “competence” in binding zinc to the plasma protein pool, suggesting changes in zinc homeostasis. This could represent a greater difficulty in organic supply owing to a shortage and/or need to increase the continuous offer of zinc to reestablish this equilibrium.

The apparent change in the strength of this relation, where we can apparently relate aging with a smaller association between plasma protein saturation, plasma zinc and ZnBCPP, leads us to speculate about the differences between young adults and the elderly in dealing with high zinc doses, administered via supplements and/or their dietary effectiveness.

Grosshauer et al. (2006) assessed ZnBCPP in athletes, before and after a zinc supplementation program. One of the groups evaluated showed significant differences in plasma zinc and ZnBCPP values, before and after supplementation; that is, as the

amount of zinc increased, there was an increase in zinc plasma and an inversely proportional concomitant decrease in protein-binding capacity, related to the organic status of the mineral.

A study by Faure et al (2005) analyzed zinc metabolism using stable isotopes, comparing a group of young women (mean age of 36 years) and a group of institutionalized (mean age of 73 years) and non-institutionalized (mean age of 72 years) elderly patients. Although zinc ingestion was similar in all the groups, differences were found in the metabolism of the mineral, in relation to the duration of the zinc in the plasma. The authors suggest that this may be related, among other factors, to the aging process and to some alteration in plasma protein-bound zinc.

Linear regression analysis showed that, in the Younger group, the variations in ZnBCPP are explained in 76% ($R^2 = 0.760$) of the cases by plasma zinc variations and the saturation index. In the Older group this response decreased to 30.5% ($R^2 = 0.305$). That is, there is a clear indication of changes in the mechanisms of zinc homeostasis related to aging, which involve alterations in the response patterns of ZnBCPP to the organic concentrations of zinc and their relation with the other zinc parameters in the organism.

Briefly, we observed this change in response pattern of the indicators, when we compared the older and younger groups, since, although the elderly apparently have more “space” to bind the zinc. This is reflected by a lower saturation index and lower amount of plasma zinc. This was also shown in the ZnBCPP, that is, although there is more space, the plasma proteins have seemingly less desire or ability to bind/capture zinc.

Mocchegiani et al (2001) suggested that these changes in the binding of zinc to carrier proteins observed in aging may be considered potential markers to assess

organism aging and a factor to be considered when defining proper diet for this stage of life.

Furthermore, Ravaglia et al. (2000) and Savarino et al. (2001) assessed groups at different life stages and found that, even among the elderly, there are differences between plasma zinc patterns, which seems to decline proportionally to age, being lower, for example, in 90 year-old individuals than in 70 year-olds.

Mocchegiani et al. (2006) offer evidence for understanding these mechanisms. According to these authors, over the course of the aging process there is an overexpression of some zinc-binding proteins such as metalloproteins and α -2-macroglobulin, which decreases zinc bioavailability in the organism. It is even speculated that this is one of the causes of immune function deficiency in the elderly.

We conclude therefore, that aging may be a factor associated to changes in control mechanisms and zinc homeostasis. It may even alter the response patterns of ZnBCPP and the other indicators of zinc-related nutritional status.

We suggest new studies, focused on the plasma protein profile, ZnBCPP and the response to different zinc supplementation regimens in the elderly, to help in the implementation of differential clinical practices for this vulnerable group.

REFERENCIA

Anderson J.J.B., Allen J.C., 1999. Nutrition of macrominerals and trace elements. In: Goldberg I. (Ed.) *Functional Foods: designer foods, pharmafoods, nutraceuticals*. Aspen Publication, p.323-354.

Arcasoy A., Canatan D., Sinav B., Kutlay L., Oguz N., Şen M., 2001. Serum zinc levels and zinc binding capacity in thalassemia. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 15, 85-87.

Argemi J., Serrano J., Gutiérrez M.C., Ruiz M.S., Gil A., 1988. Serum Zinc Binding Capacity in pregnant women. *Ann Nutr Metab*, 32, 121-126.

Cunningham J.J., Fu A., Mearkle P.L., Brown R.G., 1994. Hyperzincuria in individuals with insulin-dependent Diabetes Mellitus: concurrent zinc status and the effect of high-dose zinc supplementation. *Metabolism*, 43, 1558-1562.

Faure, P., Ducros, V., Couzy, F., Favier, A., Ferry, M., 2005. Rapidly exchangeable pool study of zinc in free-living or institutionalized elderly women. *Nutrition*, 21, 831–837.

Foote, J.W., Delves, H. T., 1984. Albumin bound and α_2 -macroglobulin bound zinc concentrations in the sera of healthy adults. *Journal of Clinical Pathology*, 37, 1050-1054.

Gomez, E., Diego, C., Orden, I., Elósegui, L.M., Borque, L., Escanero, J.F., 2000. Longitudinal study of serum copper and zinc levels and their distribution in blood proteins after acute myocardial infarction. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 14, 65 -70.

Grosshauser, M., Becker, K., Riemann, D., Langner, J., Stangl, G.I., Eder, K., 2006. The effect of daily zinc supplementation on immune system of athletes. *Trace Elements and Electrolytes*, 23, 79-85.

Iyengar, V., Woyttiez, J., 1988. Trace elements in human clinical specimens: evaluation of literature data to identify reference values. *Clinical Chemistry*, 34, 474-481.

Jong, N., Gibson, R.S., Thomson, C. D., Ferguson, E. L., Mckenzie, J.E., Green, T.J., Horwath, C.C., 2001. Selenium and Zinc Status Are Suboptimal in a Sample of Older New Zealand Women in a Community-Based Study. *Journal of Nutrition*, 131, 2677-2684.

Kiilerich, S., Christiansen, C., 1986. Distribution of serum zinc between albumin and α_2 -macroglobulin in patients with different zinc metabolic disorders. *Clinica Chimica Acta*, 154, 7-18.

Lowe, N.M., 2005. In search of a reliable marker of zinc status—are we nearly there yet?. *Nutrition*, 21, 883-884.

Mocchegiani, E., Giacconi, R., Cipriano, C., Muzzioli, M., Fattoretti, P., Bertoni-Freddari, C., Isani, G., Zambenedetti, P., Zatta, P., 2001. Zinc-bound metallothioneins as potential biological markers of ageing. *Brain Research Bulletin*, 55, 147–153.

Mocchegiani, E., Costarelli, L., Giacconi, R., Cipriano, C., Muti, E., Malavolta, M., 2006. Zinc-binding proteins (metallothionein and α_2 macroglobulin) and immunosenescence. *Experimental Gerontology*, doi:10.1016/j.exger.2006.08.010.

Pedrosa L.F.C., Spínola-Castro A., Matsumoto M., Len J., Schwartzmans F., Camargo L.P., Cozzolino S.M.F., 2000. Evaluation of zinc in children with type 1 diabetes mellitus. In: Roussel A.M., Anderson R.A., Favier A.E. (Eds.) *Trace elements in man and animals*. Plenum, p.511-513.

Pepersack, T., Rotsaert, P., Benoit, F., Willems, D., Fuss, M., Bordoux, P., Duchateau, J., 2001. Prevalence of zinc deficiency and its clinical relevance among hospitalised elderly. *Archives of Gerontology and Geriatrics*, 33, 243–253.

Ravaglia, G., Forti, P., Maioli, F., Nesi, B., Pratelli, L., Savarino, L., Cucinotta, D., Cavalli, G., 2000. Blood Micronutrient and Thyroid Hormone Concentrations in the Oldest-Old. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 85, 2260-2265.

Roberts S.B., Hays N. P., 1999. Nutritional Requirements. In: Caballero B., Sadler M.J., Strain J.J. (Eds.) *Encyclopedia of Human Nutrition*. Academic Press, p.169-318.

Rodriguez M.P., Narizano A., Demczylo V., Cid A., 1989. A simple method for the determination of zinc human plasma levels by flame atomic absorption spectrophotometry. *At Spectrosc*, 10, 68-70.

Savarino, L., Granchi, D., Ciapetty, G., Cenni, E., Ravaglia, G., Forti, P., Maioli, F., Mattioli, R., 2001. Serum concentrations of zinc and selenium in elderly people: results in healthy nonagenarians/centenarians. *Experimental Gerontology*, 36, 327-339.

Turull M.R., Argemi J., Gutierrez C., Lechuga J.L., Torra M., 1994. Evaluation of serum zinc-binding capacity during childbirth, in newborn infants and during the menstrual cycle. *Ann Nutr Metab*, 38, 20-27.

Wood R.J., 2000. Assessment of marginal zinc status in humans. *J Nutr*, 130, 1350-1354.

Table 1: General characterization of the Older and Younger groups

Variables	Older Group (n=14)		Younger Group (n=57)	
Age (years)	70.0 (\pm 8.1)		22.8 (\pm 3.3)	
Sex	Female 64.3%	Male 35.7%	Female 57.9%	Male 42.1%
BMI^a (kg/cm²)	24.1 (\pm 2.8)		22.3 (\pm 2.6)	
Total Plasma Proteins^b (g/dL)	7.5 (\pm 0.78)		7.8 (\pm 0.46)	

^aBody Mass Index

^bStudent's t-test (p= 0.161)

Table 2: Zinc related nutritional status variables of the Younger and Older groups

Variables	Older Group (n=14)	Younger Group (n=57)	
Plasma Zinc (mcg Zn/dL)	82.86 (\pm 14.02)	104.19 (\pm 14.13)	p < 0.001
Saturation Index (%)	11.69 (\pm 2.06)	15.48 (\pm 3.30)	p < 0.001
ZnBCPP (mcgZn/ g protein)	96.04 (\pm 10.7)	88.88 (\pm 14.61)	p = 0.090
CI 95(%)			

4- COMENTÁRIOS, CRÍTICAS E SUGESTÕES

O PROJETO INICIAL.

Atualmente tem sido extremamente consensual a necessidade de se conhecer padrões regionais e locais de comportamento de análises bioquímicas, em cuja discussão estão inseridos o contexto do biótipo e da dieta dos indivíduos.

Baseados nestas discussões foi que, inicialmente, foi sugerido um estudo para padronizar a técnica da Capacidade de Ligação do Zinco a Proteína Plasmática (CLPPZn), como forma de contribuir para outras pesquisas correlatas, melhorando a interpretação de dados relativos ao estado nutricional de zinco no organismo.

Embora esta seja uma metodologia que permite uma abordagem muito interessante sobre o zinco corporal, existem poucas publicações que a referenciem e não há uma clareza, na discussão dos trabalhos já publicados, sobre o real significado metabólico deste dado. Além disso, temos variáveis associadas a técnica básica, como o Índice de Saturação, cujo uso é mencionado em alguns artigos e em outros não.

Tratava-se então de um desafio e uma necessidade adaptar a técnica de CLPPZn à nossa realidade local, nas condições operacionais do Laboratório Multidisciplinar de Pesquisa do CCS-UFRN. Durante esta padronização foi definida a faixa de variabilidade intra e inter-ensaio, para controle da reprodutibilidade dos resultados, e aplicadas todas as variáveis de interpretação, sugeridas na literatura para esta técnica.

O próximo passo foi a elaboração de modelos estatísticos que permitissem uma melhor compreensão da razão zinco: proteínas e variáveis

dependentes de seu comportamento fisiológico, mensurados com a técnica da CLPPZn. Com isto, foi possível ter uma idéia do poder desta metodologia.

OBJETIVOS AMPLIADOS

A técnica apresentou resultados bastante promissores, entretanto havia escassez de dados, na literatura, que nos permitissem maiores subsídios para a adequada interpretação dos achados, especialmente quando o fator idade entrava na análise.

Por outro lado, a revisão de literatura revelou diversos pontos obscuros relacionados ao metabolismo de zinco durante o processo do envelhecimento e na interpretação dos teores de zinco plasmático em idosos, motivando-nos a dar um novo direcionamento ao nosso trabalho.

Dessa maneira, além da padronização do método da CLPPZn, foi realizada a avaliação deste parâmetro, em adultos e idosos, buscando verificar se o processo de envelhecimento causaria alterações neste aspecto do metabolismo de zinco. Nesse sentido, nossos achados confirmaram a hipótese e semearam novos questionamentos em relação ao comportamento deste mineral na senescência.

CONSIDERAÇÕES GERAIS.

Infelizmente, durante esta pesquisa, não foi possível realizar a análise das frações protéicas carreadoras de zinco, seja por colorimetria ou por eletroforese. Esta dosagem poderia ter fornecido elementos importantíssimos para ajudar a esclarecer algumas das diferenças que encontramos entre a CLPPZn de adultos e idosos.

Outro fator que limitou o nosso estudo foi a impossibilidade de aumentar a casuística de idosos saudáveis, dada a dificuldade em se rastrear indivíduos com este critério.

Em contrapartida, os critérios de inclusão e exclusão estavam bem delineados e estabelecidos, permitindo uma seleção adequada da amostra, o que foi comprovado na análise estatística do comportamento das variáveis, em ambos os grupos.

Inclusive o cuidado e a constância na interpretação estatística dos dados foi uma das razões que nos motivou a ampliar a proposta inicial deste trabalho, dado o comportamento promissor das análises iniciais do projeto e o novo grau de importância que revestiu os nossos resultados.

PUBLICAÇÃO ATUAL QUE JUSTIFICA RELEVÂNCIA DO ESTUDO.

A publicação de uma revisão recente, "Does ageing affect zinc homeostasis and dietary requirements?", Fairweather-Tait, Harvey e Dianne Ford, 2008, motivou-nos sobremaneira a publicar e dar continuidade a esta linha de investigação.

Neste artigo são questionadas as mudanças metabólicas do zinco relacionadas ao envelhecimento, ressaltando a necessidade de mais investigações sobre o assunto, a falta de técnicas adequadas para mensurar essas alterações, as poucas informações disponíveis sobre o impacto do envelhecimento sobre os carreadores de zinco e o provável impacto destes fatores na saúde dos idosos e recomendações de nutrientes.

Em nossa pesquisa também foram tecidas todas estas considerações e, com a conclusão da análise dos resultados, podemos oferecer dados valiosos

que fornecerão elementos para a elaboração da resposta a todos estes questionamentos e subsídios para que seja dada continuidade a este trabalho, por exemplo, com a avaliação de padrões de resposta à suplementação em idosos e avaliação eletroforética e/ou molecular do perfil das proteínas plasmáticas ligadoras do zinco.

De fato, nosso trabalho é o primeiro no Brasil a usar a técnica da CLPPZn em idosos, sendo pioneiro na abordagem do binômio zinco x envelhecimento por este viés. Além disso, mesmo na literatura internacional, há poucos estudos usando esta metodologia, e raríssimos com pessoas saudáveis.

Este é o resultado de um esforço iniciado ainda na Iniciação Científica, cujo prosseguimento aconteceu na Pós-Graduação *Strictu Senso* e na participação, como membro, do grupo de pesquisa Alimentos, Nutrição e Saúde–UFRN, cadastrado no CNPq. Esta continuidade científica possibilitou uma formação sólida na área de pesquisa de nutrição e metabolismo de nutrientes.

Foi justamente esta preparação acadêmico-científica que permitiu o aprofundamento do tema inicialmente proposto, sem comprometimento do cronograma de execução, além de realizar interface com vários projetos pertencentes à mesma base de pesquisa e em áreas correlatas, como Ciências Farmacêuticas. Outro fruto desta constância é a orientação em pesquisa, na área de nutrição, em um projeto piloto sobre ingestão de nutrientes na cidade de Natal, com alunos da graduação do curso de Nutrição da Universidade Potiguar.

5 - APÊNDICE

PRODUÇÃO CIENTÍFICA

Artigos Publicados

Medeiros, ACQ, Almeida, MG, Oliveira, VTL, Nascimento, DA, Lima, KC, Tinoco, LS, Pedrosa, LFC. Metabolic alterations of zinc related to aging. Revista Chilena de Nutrición, 2008.

Batista, MN, Canziani, MEF, Pedrosa, LFC, Almeida, MG, Almeida, JB, Medeiros, ACQ., Cuppari, L. Effect of End-Stage Renal Disease and Diabetes on Zinc and Copper Status. Biological Trace Element Research, 113, 2006.

Artigos em Elaboração

Nascimento, DA, Sales, CH, Almeida, MG, Lima, KC, Medeiros, ACQ, Mesquita, NA, Araújo, TM, Pedrosa, LFC. Valores de referência para cobre, zinco e magnésio no plasma e no eritrócito em adultos universitários.

Lira, NRD, Paiva, MSMO, Almeida, MGA, Silva, TMA, Nascimento, DA, Medeiros, ACQ, Macedo, UB, Silva, EP, Oliveira, AGRC, Pedrosa, LFC. Assessment of copper and lipid peroxidation in patients with coronary atherosclerosis.

Resumos publicados em Anais de Congressos

Sales, CH, Colli, C, Nascimento, DA, Medeiros, ACQ, Pedrosa, LFC. Construção de valores de referência para magnésio plasmático em estudantes da UFRN.. In: 9 Congresso Nacional da SBAN, 2007, São Paulo. Nutrire. São Paulo : SBAN, 2007. v. 32. p. 85-85.

Oliveira, VTL, Pedrosa, LFC, Medeiros, ACQ, Batista, MN, Sena, KCM, Lima, S CV, Almeida, MG, Lira, NRD. Avaliação bioquímica do zinco em pacientes com diagnóstico de possível ou provável Doença de Alzheimer. In: 8o. Congresso da Sociedade Brasileira de Alimentação e Nutrição - SBAN, 2005, São Paulo. Nutrire- 8º Congresso Nacional da SBAN, 2005. v. 30. p. 16-16.

Sena, KCM, Pedrosa, LFC, Arrais, RF, Souza, ZM, Lima, SCVC, Oliveira, VTL, Medeiros, ACQ. Efeito da suplementação com zinco em pacientes com Diabetes tipo 1. In: 8o. Congresso da Sociedade Brasileira de Alimentação e Nutrição - SBAN, 2005, São Paulo. Nutrire- 8º Congresso Nacional da SBAN, 2005. v. 30. p. 225-225.

Lira, NRD, Pedrosa, LFC, Paiva, MSMO, Silva, TMA, Rezende, AA, Medeiros, ACQ, Macedo, UBO, Brito, ANM. Perfil lipídico de pacientes com Doença Arterial Coronariana (DAC) submetidos à angioplastia e/ou cirurgia de revascularização. In: 8o. Congresso da Sociedade Brasileira de Alimentação e Nutrição - SBAN, 2005, São Paulo. Nutrire- 8º Congresso Nacional da SBAN, 2005. v. 30. p. 212-212.

Nascimento, DA, Pedrosa, LFC, Medeiros, ACQ, Lima, KC, Tinoco, LS, Ferreira, DQC, Pereira, GTC. Avaliação dietética e antropométrica de estudantes da Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN). In: 8o. Congresso da Sociedade Brasileira de Alimentação e Nutrição - SBAN, 2005, São Paulo. Nutrire- 8º Congresso Nacional da SBAN, 2005. v. 30.

Nascimento, DA, Pedrosa, LFC, Medeiros, ACQ, Lima, KC, Silva, TMA, Ferreira, DQC, Pereira, GTC, Brito, ANM. Caracterização do estilo de vida e de antecedentes familiares para doenças crônicas não transmissíveis de estudantes da Universidade Federal do Rio Grande do Norte-UFRN. In: 8º. Congresso da Sociedade Brasileira de Alimentação e Nutrição - SBAN, 2005, São Paulo. Nutrire- 8º Congresso Nacional da SBAN, 2005. v. 30. p. 105-105.

Nascimento, DA, Pedrosa, LFC, Medeiros, ACQ, Silva, TMA, Almeida, MG, Lima, KC, Marinho, DS, Sales, CH, Brito, ANM. Construção de valores de referência de cobre plasmático em adultos jovens. In: 8o. Congresso da Sociedade Brasileira de Alimentação e Nutrição - SBAN, 2005, São Paulo. Nutrire - 8º Congresso Nacional da SBAN, 2005. v. 30. p. 32-32.

PARTICIPAÇÃO EM EVENTOS

III Congresso Internacional de Nutrição Clínica Funcional. Membro da Comissão Científica. 2007.

IX Congresso Científico da Universidade Potiguar. Aspectos importantes em vitaminas lipossolúveis – Palestrante mini-curso.

XIV Congresso Norteriograndense de Cardiologia. V Simpósio de Nutrição em Cardiologia. Os efeitos da suplementação nutricional na atualidade. - Palestrante. 2007.

XXII Congresso Sul-Americano de Cardiologia. 61º.Congresso Brasileiro de Cardiologia. 11º.Fórum de Nutrição. Estresse oxidativo e expressão gênica – Palestrante. 2007.

II Congresso Internacional de Nutrição Clínica Funcional. Membro da Comissão Científica. 2006.

II Congresso Internacional de Nutrição Clínica Funcional. Estresse Oxidativo e Expressão Gênica- Palestrante. 2006.

XIII Congresso Norterio-grandense de Cardiologia. IV Simpósio de Nutrição em Cardiologia. Ácidos graxos, expressão gênica e doença coronariana - Palestrante. 2006.

XIII Congresso Norterio-grandense de Cardiologia. IV Simpósio de Nutrição em Cardiologia. O papel da vitamina K no processo de calcificação arterial - Palestrante. 2006.

MATERIAL COMPLEMENTAR

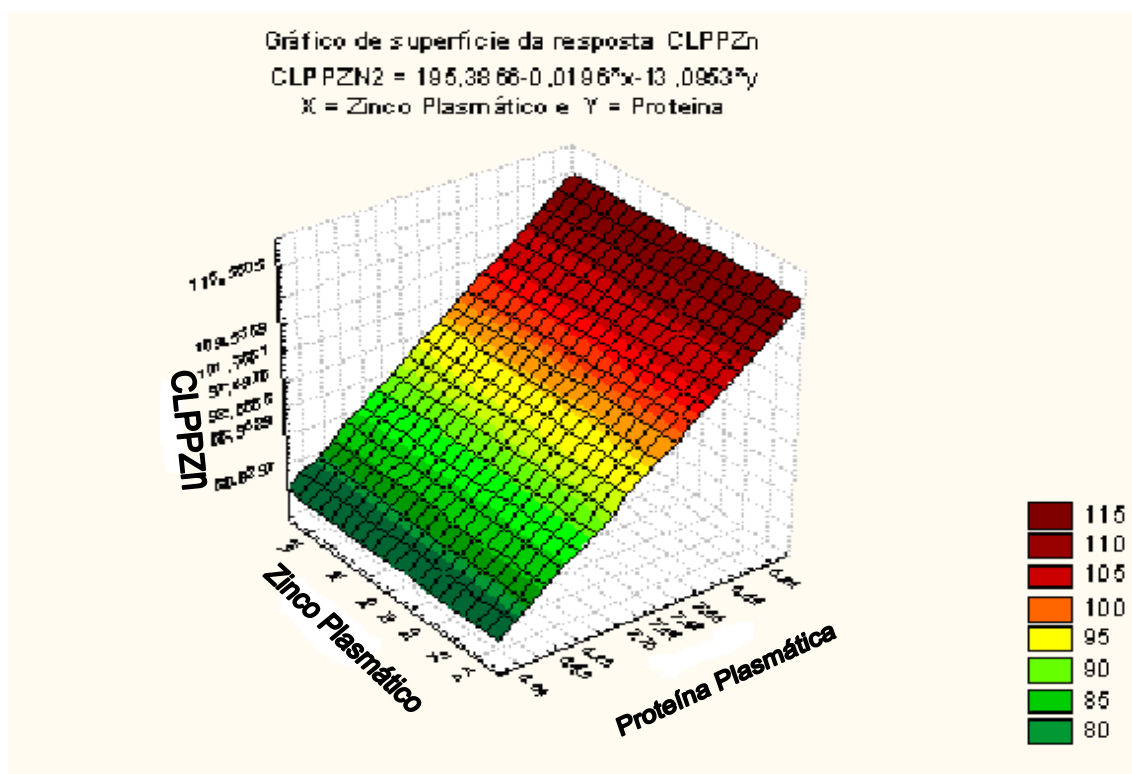


Gráfico 1: Gráfico de superfície do modelo estatístico, através da regressão linear múltipla, entre a resposta dependente CLPPZn (mcg Zn/g proteína) e os regressores Zinco Plasmático (mcg/dL) e Proteínas Totais (g/dL), em um grupo de idosos saudáveis (n=14), Natal-RN.

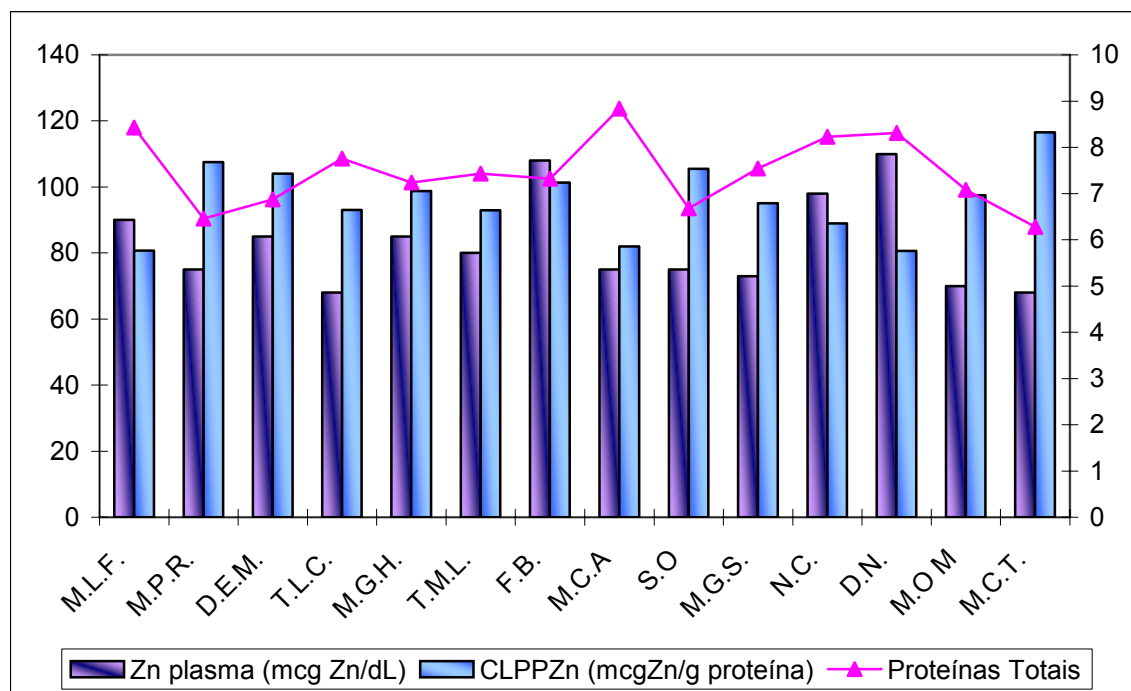


Gráfico 2: Valores de zinco plasmático (mcg/dL), capacidade de ligação da proteína plasmática ao zinco (CLPPZn em mcg Zn/ g proteína) e proteínas totais (g/dL), em um grupo de idosos saudáveis (n=14), Natal-RN.

6- ANEXO

Padronização da Capacidade de Ligação do Zinco a Proteínas Plasmáticas (CLPPZn)

Fundamento do Método

O método para determinar a capacidade de ligação do zinco é baseado na adição, em soro ou plasma, de uma quantidade conhecida de íons de zinco para saturar as proteínas carreadoras deste metal. O zinco não-residual ou zinco livre (não ligado a proteínas) é determinado por meio de uma reação com hidroxicarbonato de magnésio.

Este sal tem uma solubilidade relativamente alta. Entretanto, a solubilidade do produto desta reação, o hidróxido de zinco, é muito baixa, assim ele imediatamente precipita e, mesmo que a reação seja deslocada em sentido inverso, a precipitação deste composto continua acontecendo. Este método permite uma total garantia que todo o zinco que não esteja ligado a proteína seja eliminado (ou quelado) quando adicionado um excesso de magnésio carbonato básico

Procedimentos Iniciais

Para a dosagem da CLPPZn, é necessária a coleta de 12 mL de sangue, no período da manhã, em jejum de 10-12 horas, usando citrato de sódio a 30% como anticoagulante, na proporção de 10 µl/mL de sangue.

A seguir, o plasma deve ser separado do sangue por rotação em centrífuga refrigerada a 3000 rpm e 4°C, durante 15 minutos.

Toda vidraria e recipientes utilizados durante o experimento precisam ser desmineralizados e a água utilizada, para o preparo de soluções e diluição das amostras, deve ser desionizada e/ou tipo ultrapura (Milli-Q).

Processamento da Amostra

Metodologia proposta por Argemi et al (1988) e Cunningham et al (1994), modificada por Pedrosa et al (2000).

De cada amostra de plasma são retiradas duas alíquotas de 0,5 mL, que devem ser misturadas a igual volume de uma solução padrão de zinco 10 mcg Zn/mL. A seguir, agitar as amostras lentamente, por inversão, e deixar em repouso por 30 minutos.

O próximo passo é a precipitação das proteínas plasmáticas. A cada amostra devem ser acrescentados 85mg de hidroxicarboneto de magnésio (previamente pesado) e 4mL de água ultrapura (MILLI-Q), homogeneizando-se os tubos a seguir. Depois de 30 minutos em repouso, centrifugar a solução a 3000 rpm, por 10 minutos e 4°C. A seguir, deve ser recolhido o sobrenadante..

Mensuração do Zinco

A determinação da concentração de zinco no plasma no plasma e no sobrenadante, por espectrofotometria de absorção atômica, foi padronizada segundo o método proposto por Rodriguez et al. (1989).

Alíquotas de 500 μ L de cada amostra, em duplicata, são diluídas em água deionizada na proporção 1:4, no caso do plasma, e 1:5 no caso do sobrenadante.

Em seguida proceder a homogeneização da amostra, por agitação, e leitura por aspiração em chama direta. Os resultados registrados em μ gZn/mL devem ser convertidos em μ gZn/dL.

Como padrão para as análises do zinco no plasma e sobrenadante, deve ser usada a solução de zinco Tritisol (MERCK®), preparada por diluição em água desionizada, nas concentrações de 0,1; 0,2; 0,3; 0,5 e 1 µg/mL, armazenada sob refrigeração. As curvas deverão ser de 10% de glicerol para leitura da concentração de zinco no plasma, eliminando assim a interferência da matriz biológica nas análises.

Mensuração das Proteínas Totais

As proteínas totais, necessárias para esta análise, são mensuradas de acordo com o kit para proteínas totais da BioSystems, por reação colorimétrica ao biureto, conforme padronização do fabricante, com leitura em Espectrofotômetro Coleman .

Cálculo

Exemplo: Resultados do paciente **DEM**

Proteínas Totais → 6,87 g/dL

Leitura do sobrenadante → 0,80 mcgZn/mL

Leitura do zinco plasmático → 0,85 mcg Zn/mL →

Então em 0,5 mL plasma temos → 0,425 mcgZn

Sistema da CLPPZn → 0,5 plasma -----▶ 0,425 mcgZn

0,5 solução padrão 10 mcg Zn/mL → 5,00 mcgZn

4,0 mL água ultrapura

85 mg CO₃Mg⁺²

Total de Zn do sistema → 5,425 mcgZn

RECUPERADO DO SOBRENADANTE

0,80 mcgZn/mL x 5 → 4,00 mcg Zn

0,5 mL plasma + 0,5 mL padrão + 4,0 mL água

TOTAL DE ZINCO LIGADO

Total de Zn do Sistema – Zn Recuperado → $5,425 - 4,00 = 1,425$ mcgZn

Portanto...

5 mcgZn adicionado – 1,425 mcgZn quelado →
3,575 mcgZn ligado a proteína em 0,5 mL plasma

$3,575$ mcgZn/0,5mL plasma → $7,15$ mcgZn/mL plasma (x100) → 715 mcgZn/dL

plasma

715 mcgZn/dL plasma ÷ $6,87$ g/dL Proteínas Totais → $104,07$ mcgZn/g

proteína plasmática

Índice de Saturação

De acordo com formula proposta por Arcasoy et al. (2001):

$\%IS \rightarrow (\text{Zinco Plasmático} / \text{CLPPZ}) \times 100$

7- REFERÊNCIAS

Anderson JJB, Allen JC. Nutrition of macrominerals and trace elements. In: Goldberg I. Functional Foods: designer foods, pharmafoods, nutraceuticals. Aspen Publication; 1999. p.323-354.

Arcasoy A, Canatan D, Sinav B, Kutlay L, Oguz N, Şen M. Serum zinc levels and zinc binding capacity in thalassemia. Journal of Trace Elements in Medicine and Biology 2001;15:85-87.

Argemi J, Serrano J, Gutiérrez MC, Ruiz MS, Gil A. Serum Zinc Binding Capacity in pregnant women. Annals of Nutrition and Metabolism 1988;32:121-126.

Briefel, RR, Bialostosky, K, Kennedy-Stephenson, J, Mcdowell, MA, Ervin, RB, Wright, JD. Zinc Intake of the U.S. Population: Findings from the Third National Health and Nutrition Examination Survey, 1988–1994. Journal of Nutrition "Zinc and Health: Current Status and Future Directions" 2000;130:1367-1373.

Cabreiro F, Perichon M, Jatje J, Malavolta M, Mocchegiani E, Friguet B, Petropoulos I. Zinc supplementation in the elderly subjects: Effect on oxidized protein degradation and repair systems in peripheral blood lymphocytes. Experimental Gerontology 2008;43:483–48.

Cesar TB, Wada SR, Borges RG. Zinco plasmático e estado nutricional em idosos. Revista de Nutrição 2005;18:(3):357-365.

Charlton, KE. Eating well: ageing gracefully! Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition 2002;11S:607-617.

Cunningham JJ, Fu A, Mearkle PL, Brown RG. Hyperzincuria in individuals with insulin-dependent Diabetes Mellitus: concurrent zinc status and the effect of high-dose zinc supplementation. Metabolism 1994;43:1558-1562.

El-Khoury AE. Recent developments in the search for methods of assessing zinc status. *Trends in Food Science & Technology* 1991;.2(1):10-12.

Expert Group on Vitamins and Minerals. Revised Review of Zinc. Food Standards Agency;2002. 42p. [cited 2004 Ago 17]. Available from: URL:<http://www.food.gov.uk/science/ouradvisors/vitandmin/evmpapers>

Fairweather-Tait SJ, Harvey LJ, Ford D. Does ageing affect zinc homeostasis and dietary requirements? *Experimental Gerontology* 2008;43:382–388.

FAO/WHO expert consultation on human vitamin and mineral requirements. Zinc. In: *Human Vitamin and Mineral Requirements*. FAO/WHO; 1998. p.257-270.

Foot J, Delves HT. Albumin bound and α_2 -macroglobulin bound zinc concentrations in the sera of healthy adults. *Journal of Clinical Pathology* 1984;37:1050-1054.

Golden TR, Hinerfeld DA, Melov S. Oxidative stress and aging: beyond correlation. *Aging Cell*, 2002; 1:117-123.

Hambidge M. Human zinc deficiency. *Journal of Nutrition* 2000;(130):1344-1349.

Jong N, Gibson RS, Thomson CD, Ferguson EL, McKenzie JE, Green TJ, Horwath CC. Selenium and Zinc Status Are Suboptimal in a Sample of Older New Zealand Women in a Community-Based Study. *Journal of Nutrition* 2001;131:2677-2684.

Kiellerich S, Christiansen C. Distribution of serum zinc between albumin and α_2 -macroglobulin in patients with different zinc metabolic disorders. *Clinica Chimica Acta* 1986;154:7-18.

King JC, Keen CL. Zinc. In: Shils ME, Olson JA, Shike M, Ross A. Modern Nutrition in health and disease. 9th ed. Lippincott Williams & Wilkins;1998. p. 223-239.

King JC, Shames DM, Woodhouse LR. Zinc homeostasis in humans. *Journal of Nutrition* 2000;130:1360-1366.

Marcellini F, Giulli C, Papa R, Gagliardi C, Malavolta M, Mocchegiani E. Psychosocial and biochemical interactions in aging: preliminary results from an Italian old sample of “ZincAge” Project. *Archives of Gerontology Geriatrics* 2007; Suppl.1: 259–269.

Ministry of Health – Manatu Hauora. Food and Nutrition Guidelines for Healthy Older People - A Background Paper. 2^a ed. Wellington, New Zealand: 1996. 40p.

Mocchegiani E, Costarelli L, Giacconi R, Cipriano C, Muti E, Malavolta M. Zinc-binding proteins (metallothionein and α -2 macroglobulin) and immunosenescence. *Experimental Gerontology*, 2006; doi:10.1016/j.exger.2006.08.010.

Passero V, Moreira EAM. Estado nutricional de idosos e sua relação com a qualidade de vida. *Revista Brasileira de Nutrição Clínica* 2003;18:(01):1-7.

Pedrosa LFC, Spínola-Castro A, Matsumoto M, Len J, Schwartzmans F, Camargo LP, Cozzolino SMF. Evaluation of zinc in children with type 1 diabetes mellitus. In: Roussel AM, Anderson RA, Favier AE. Trace elements in man and animals. Plenum; 2000. p.511-513.

Pepersack T, Rotsaert P, Benoit F, Willems D, Fuss M, Bordoux P, Duchateau J. Prevalence of zinc deficiency and its clinical relevance among hospitalised elderly. *Archives of Gerontology and Geriatrics* 2001;33: 243–253.

Prasad AS. Zinc deficiency - Has been known of for 40 years but ignored by global health organizations. *British Medical Journal* 2003;326:409-410.

Prasad AS. Clinical, immunological, anti-inflammatory and antioxidant roles of zinc. *Experimental Gerontology* 2008;43: 370–377.

Ravaglia G, Forti P, Maioli F, Nesi B, Pratelli L, Savarino L, Cucinotta D, Cavalli G. Blood Micronutrient and Thyroid Hormone Concentrations in the Oldest-Old. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 2000;85:(06):2260-2265.

Roberts SB, Hays NP. Nutritional Requirements. In: Caballero B., Sadler M.J., Strain J.J. *Encyclopedia of Human Nutrition*. Academic Press; 1999. p.169-318.

Rodriguez MP, Narizano A, Demczyklo V, Cid A. A simple method for the determination of zinc human plasma levels by flame atomic absorption spectrophotometry. *Atomic Spectroscopy* 1989;10(2):68-70.

Savarino L, Granchi D, Ciapetty G, Cenni E, Ravaglia G, Forti P, Maioli F, Mattioli R. Serum concentrations of zinc and selenium in elderly people: results in healthy nonagenarians/centenarians. *Experimental Gerontology*, 2001;36:327-339.

Solomons, N. W. Zinc: Physiology. In: Caballero, B., Sadler, M. J., Strain, J. J. *Encyclopedia of Human Nutrition*. Academic Press; 1999. p.169-318.

Souter S, Keller CS. Nutritional Risk Assessment in the Older Adult. *Southern Online Journal of Nursing Research* 2000; 01:(03):1-21. Disponível na Internet: www.snrs.org

Turull MR, Argemi J, Gutierrez C, Lechuga JL, Torra M. Evaluation of serum zinc-binding capacity during childbirth, in newborn infants and during the menstrual cycle. *Annals of Nutrition and Metabolism* 1994;(38):20-27.

Uciechowski P, Kahmann L, Plümäkers B, Malavolta M, Mocchegiani E, Dedoussis G, Herbein G, Jajte J, Fulop T, Rink L. TH1 and TH2 cell polarization increases with aging and is modulated by zinc supplementation. *Experimental Gerontology* 2008;43: 493–498.

Wood, R.J. Assessment of marginal zinc status in humans. *Journal of Nutrition* 2000;(130):1350-1354.