

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

**Efeito da suplementação com minerais antioxidantes em  
pacientes com aterosclerose tratados com estatinas**

**Karine Cavalcanti Maurício de Sena Evangelista**

**Tese para obtenção do grau de  
DOUTOR**

**Orientadora:**

Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Dulcinéia Saes Parra Abdalla

**Co-orientadora:**

Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Lucia de Fátima Campos Pedrosa Schwarzschild

São Paulo  
2010

# **Livros Grátis**

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

**Karine Cavalcanti Maurício de Sena Evangelista**

**Efeito da suplementação com minerais antioxidantes em  
pacientes com aterosclerose tratados com estatinas**

**Tese para obtenção do grau de  
DOUTOR**

**Orientadora:**

Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Dulcinéia Saes Parra Abdalla

**Co-orientadora:**

Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Lucia de Fátima Campos Pedrosa Schwarzschild

São Paulo  
2010

### **Ficha Catalográfica**

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

S474e	<p>Sena-Evangelista, Karine Cavalcanti Maurício de Efeito da suplementação com minerais antioxidantes em pacientes com aterosclerose tratados com estatinas / Karine Cavalcanti Maurício de Sena-Evangelista. -- São Paulo, 2010. 164p.</p> <p>Tese (doutorado) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo. Departamento de Alimentos e Nutrição Experimental Orientador: Abdalla, Dulcinéia Saes Parra Co-orientador: Schwarzschild, Lúcia de Fátima C. Pedrosa</p> <p>1. Zinco : Avaliação nutricional : Ciência dos alimentos 2. Selênio : Avaliação nutricional : Ciência dos alimentos 3. Aterosclerose 4. Estresse oxidativo 5. Inflamação : Medicina I. T. II. Abdalla, Dulcinéia Saes Parra, orientador. III. Schwarzschild, Lúcia de Fátima Campos Pedrosa, co-orientador.</p>
641.17 CDD	

Karine Cavalcanti Maurício de Sena Evangelista

**Efeito da suplementação com minerais antioxidantes em pacientes com  
aterosclerose tratados com estatinas**

Comissão Julgadora  
da  
Tese para obtenção do grau de Doutor

---

**Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Dulcinéia Saes Parra Abdalla**  
Orientador/presidente

---

**Prof<sup>a</sup> Titular Sílvia Maria Fraciscatto Cozzolino**  
1º Examinador

---

**Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Inar Alves de Castro**  
2º Examinador

---

**Prof. Dr. Marcelo Chiara Bertolami**  
3º Examinador

---

**Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Maysa Seabra Cendoroglo**  
4º Examinador

São Paulo, 06 de agosto de 2010

A **Deus** por toda a Sua misericórdia

Aos meus queridos pais, **Wanuza e Murilo**, por  
serem meus exemplos de vida

Ao meu grande amor, **Adriano**, pela sua cumplicidade,  
companheirismo e amizade

Ao **meu filho** ou **À minha filha**, que mesmo ainda no  
meu ventre, já é capaz de despertar um sentimento  
mágico de amor e felicidade

## AGRADECIMENTOS

A **Deus** minha mais sincera gratidão por todas as bênçãos de saúde e paz, pela luz e força que me impulsiona, tornando-me inabalável frente aos obstáculos da longa caminhada da vida.

Aos meus pais, **Wanuzza e Murilo**, por acreditarem nos meus sonhos e sempre me incentivarem nessa busca incessante pelo conhecimento, certos de que este é um dos maiores tesouros de um ser humano. Obrigado a vocês pelo amor, por compreenderem as minhas constantes ausências, pelas palavras de conforto e motivação, e, sobretudo pelo esforço imensurável para que os meus ideais sejam alcançados.

Ao meu marido, **Adriano**, pela sua imensa compreensão, companheirismo, paciência, tolerância e incentivo. Meu amor, muito obrigada por você estar sempre ao meu lado, pelas palavras de incentivo e por fazer parte da minha vida e das minhas conquistas.

Às minhas avós, **Nilza (Oci) e Nazareth**, pelas lições de vida, incentivo e constantes orações.

Aos meus irmãos, **Adriano e Luciane**, cunhado, **Gúbio**, cunhada/prima, **Fabiane**, primos **Renato e Eveline** e sobrinhos, **Sarah, Isaac e Daniel**, pelo companheirismo, amizade, momentos de alegria e descontração.

À **Família Evangelista** que recebi com o casamento, muito obrigada pelo carinho com que me acolheram, pelo apoio e incentivo.

À minha orientadora **Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Dulcinéia Saes Parra Abdalla** e co-orientadora **Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Lucia de Fátima Campos Pedrosa Schwarzschild** pela credibilidade, confiança, gentileza, incentivo e pelas oportunidades proporcionadas para o meu crescimento científico. Muito obrigada pelas inquestionáveis orientações e, acima de tudo, por vocês serem o meu exemplo de profissionalismo, competência e dedicação.

À Médica cardiologista do Serviço de Hemodinâmica do Natal Hospital Center, **Dr<sup>a</sup> Maria Sanali Moura de Oliveira Paiva**, por abraçar este projeto como colaboradora, pela

disponibilidade, aprendizado, confiança e espírito cooperativo durante a seleção e acompanhamento dos pacientes.

Às Mestrandas do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas – UFRN, **Nutricionistas Paula Cristina Silveira Dias e Diana Quitéria Cabral Ferreira** pelo companheirismo, amizade e colaboração durante todas as etapas de realização deste trabalho.

Às minhas **colegas do Departamento de Nutrição da UFRN** pelo incentivo, torcida e aprovação do meu afastamento, de forma que eu pudesse abraçar a oportunidade de aprimorar os meus conhecimentos para a minha vida profissional e pessoal, além de desfrutar dos momentos maravilhosos do mundo “USP”. Agradeço, especialmente, as minhas grandes amigas, **Severina Carla Vieira de Cunha Lima e Clélia de Oliveira Lyra**, pela cumplicidade, companheirismo, amizade e carinho.

À amiga **Cristiane Hermes Sales** pela companhia, alegrias e ansiedades compartilhadas, pelo apoio nos momentos de incertezas durante o primeiro momento de chegada à cidade de São Paulo.

Ao pessoal do **LabMulti – Laboratório Multidisciplinar de Pesquisa – da UFRN** pela receptividade e por compartilhar os espaços. Agradeço a **Francisco Freire Neto e Rand Randall Martins** pela troca de informações durante a padronização das análises das enzimas.

Às Farmacêuticas do **Laboratório de Análises Clínicas do Hospital Universitário Onofre Lopes – UFRN**, destacando **Ana Tereza Sales Souza Lima**, pela forma atenciosa que nos recebeu, pelo profissionalismo e dedicação na realização das análises bioquímicas, em meio a tantos outros afazeres.

Aos Diretores do **Laboratório Alexander Fleming – Natal/RN**, **Dr. Gustavo Freire Ribeiro e Dr. Kleber Cavalcanti** pela atenção e realização das análises da PCR-as.

Aos amigos do **Laboratório de Bioquímica Clínica FCF/USP**, em especial, **Tanize Faulin do Espírito Santo**, pelo seu acolhimento, companheirismo, cumplicidade, pela troca de conhecimentos e informações na descoberta do mundo dos ELISAS! Obrigada, Tan, pela amizade e por tornar a minha estada em São Paulo ainda mais agradável.



À **Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Sílvia Maria Franciscato Cozzolino** por todo apoio e gentileza ao disponibilizar o seu Laboratório para realização das análises de selênio.

Às amigas do **Laboratório de Nutrição e Minerais – FCF/USP, Janaína, Kaluce, Liliane e a bolsista Graziela** pelo auxílio durante as análises de selênio e pelo carinho e compreensão, mesmo diante de tamanha bagunça!

Aos Técnicos dos Laboratórios FCF-USP **José Alexandre Pimentel e Elaine Augusto** pela disponibilidade e auxílio de alta capacidade técnica relevantes para as análises de selênio e LDL(-), respectivamente.

À **Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Tereza Neuma de Castro Dantas - Departamento de Engenharia Química - UFRN** pela sua sensibilidade e presteza durante a viabilização das análises de zinco.

À Diretora Técnica da **Farmácia de Manipulação Companhia da Fórmula<sup>®</sup> – Natal/RN, Maria Eliene Mendes de Freitas**, pela receptividade, pontualidade e seriedade no preparo da suplementação e controle do cegamento do estudo.

Ao **Albion Laboratories Incorporation<sup>®</sup>** pela doação da matéria prima utilizada para confecção das cápsulas de zinco e selênio, credibilidade e investimento na pesquisa científica no Nordeste.

À **AstraZeneca<sup>®</sup>**, na pessoa da representante regional **Janaína Oliveira da Silva Gusmão**, pelo esforço e incentivo, por meio da doação de parte da rosuvastatina utilizada durante o acompanhamento dos pacientes.

Às graduandas do Curso de Nutrição – UFRN, bolsistas queridas **Caroline Machado Medeiros, Heliane Moura, Neidjany Patrícia Lima Torres, Renata Nayane Fernandes dos Santos** por estarem sempre presentes nas atividades de laboratório, participando efetivamente com responsabilidade, profissionalismo e a maturidade de futuras pesquisadoras. Obrigada pela seriedade e pela ajuda imprescindível!

Aos **Técnicos de Enfermagem do Natal Hospital Center – Natal/RN, Ivanildo, Humberto, Kátia e Albanir** pela forma atenciosa que sempre nos tirava do sufoco, durante as coletas de sangue dos pacientes.

Ao Estatístico **Tiago Pereira** pela forma profissional e dedicada com que conduziu as análises estatísticas.

À **Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES**, que por meio do **Programa Institucional de Capacitação Docente e Técnica (PICDT)**, apoiou a minha capacitação, disponibilizando gratificação financeira fundamental para a realização da pós-graduação, fortalecendo a qualificação do quadro de professores da UFRN.

À **Fundação de Apoio à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Norte (FAPERN)** pelo incentivo financeiro para a realização deste estudo, por meio do Programa de Pesquisa para o SUS – PPSUS 2007 (Projeto 981-199697778).

Aos pacientes e acompanhantes pela atenção, confiança e cooperação desprendida, em busca de uma melhor qualidade de vida.

Enfim...obrigada a todos que de alguma forma contribuíram direta ou indiretamente para a conclusão deste estudo.

*...mas os que esperam no Senhor renovam suas forças, sobem como águias,  
correm e não se cansam, caminham e não se fatigam.*

***Isaías 40:31***

## RESUMO

SENA-EVANGELISTA, Karine Cavalcanti Maurício de. Efeito da suplementação com minerais antioxidantes em pacientes com aterosclerose tratados com estatinas. 2010. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Universidade de São Paulo, São Paulo, 2010.

O objetivo deste estudo clínico randomizado duplo-cego foi avaliar o efeito da suplementação oral de zinco e selênio concomitante ao tratamento com rosuvastatina sobre os marcadores de estresse oxidativo e inflamação, bem como o *status* de zinco e selênio, em pacientes com aterosclerose, apresentando angina estável. A amostragem foi composta por adultos e idosos, 47 homens e 29 mulheres, com diagnóstico de aterosclerose coronariana por angiografia, atendidos no Serviço de Hemodinâmica do Natal Hospital Center - Natal / RN. O projeto foi aprovado pelos Comitês de Ética em Pesquisa da UFRN e da FCF-USP. A coleta de dados foi realizada no primeiro momento e após 4 meses do tratamento com rosuvastatina 10 mg, concomitante à suplementação com zinco (30mg/d) e selênio (150µg/d), ou placebo, sendo avaliados os parâmetros antropométricos e dietéticos, zinco e selênio plasmáticos e eritrocitários, perfil lipídico, LDL minimamente oxidada, anticorpos anti-LDL(-), imunocomplexos Ac-LDL(-), GPx, SOD, IL-6 e PCR-as. Houve predominância do gênero masculino, idade média em torno de 60 anos, ex-fumantes, portadores de hipertensão arterial, alta frequência do sobrepeso/obesidade e circunferência abdominal aumentada/muito aumentada. As dietas caracterizaram-se como hipocalórica, hiperprotéica, normoglicídica e hipolípídica, com baixo teor de fibra e altas prevalências de inadequação de ingestão de zinco e selênio. O *status* de zinco e selênio no plasma e eritrócitos não foi alterado significativamente nos grupos placebo e suplementado entre os dois momentos do estudo. A terapia com a rosuvastatina mostrou-se eficaz na redução das concentrações de colesterol total, LDL, colesterol não-HDL, triacilgliceróis e PCR-as, independente da suplementação com os minerais zinco e selênio. As concentrações de LDL(-), Ac anti-LDL(-), imunocomplexos, IL-6 e as atividades das enzimas SOD e GPx não foram modificadas em função das intervenções com rosuvastatina associadas ou não à suplementação. Conclui-se que o tratamento com rosuvastatina 10mg durante 4 meses não alterou o *status* de zinco e selênio considerando os biomarcadores avaliados. A suplementação de zinco e selênio não influenciou os biomarcadores de estresse oxidativo e inflamação. Estudos adicionais serão

necessários para avaliação da necessidade de suplementação neste grupo de pacientes com aterosclerose, analisando-se outras doses, tempo de suplementação e biodisponibilidade da forma química dos minerais prescritos.

Palavras-chave: aterosclerose, zinco, selênio, estresse oxidativo, inflamação

## ABSTRACT

SENA-EVANGELISTA, Karine Cavalcanti Maurício de. Effect of supplementation with antioxidant minerals in patients with atherosclerosis treated with statins. 2010. Thesis (Ph.D. in Food Science) - Faculty of Pharmaceutical Sciences. University of São Paulo, São Paulo, 2010.

The aim of this randomized double-blind study was to evaluate the effect of oral zinc and selenium supplementation, concomitant with rosuvastatin treatment, on markers of oxidative stress and inflammation, as well as the status of zinc and selenium in adult patients with atherosclerosis and stable angina. The study included 47 men and 29 women, average age around 60 years, with coronary atherosclerosis diagnosed by angiography at the Hemodynamic Service at Natal Hospital Center - Natal / RN. The project was approved by the Ethics Committee of UFRN and FCF-USP. Data from patients were obtained at beginning and after four months of treatment with 10 mg rosuvastatin, concomitantly with zinc (30mg/d) and selenium (150µg/d) supplementation or placebo. The anthropometric and dietary data, zinc and selenium concentrations in plasma and erythrocyte, lipid profile, electronegative LDL (LDL(-)), anti- electronegative LDL, Ac-LDL(-) immune complexes, GPx and SOD activities, IL-6 and hs-CRP were evaluated in all patients. Most patients were former smokers with arterial hypertension, high rate of overweight/obesity and increased waist circumference. The diets contained low-calorie, hyperproteic, normoglycidic, low-fat and fiber content and inadequate intake of zinc and selenium. The status of zinc and selenium in plasma and erythrocytes was not changed significantly in the supplemented and placebo groups between the two moments of the study. Rosuvastatin therapy was effective in reducing total cholesterol, LDL, non-HDL cholesterol, triglycerides and hs-CRP level, regardless of supplementation with the minerals zinc and selenium. The concentrations of LDL (-), anti-LDL (-), immune complexes, IL-6 and the activities of SOD and GPx were not modified by zinc and selenium supplementation associated with rosuvastatin. In conclusion, the treatment with 10 mg rosuvastatin for 4 months did not change either the status of zinc and selenium or the biomarkers evaluated in this study. Zinc and selenium supplementation did not affect oxidative stress and inflammation biomarkers. Additional studies are needed to evaluate the need for antioxidant minerals supplementation in patients with atherosclerosis, mainly to

investigate other doses, duration of supplementation and bioavailability of the chemical form of the prescribed minerals.

Key words: atherosclerosis, zinc, selenium, oxidative stress, inflammation

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

<b>Figura 1</b> – Eventos iniciais para o desenvolvimento da placa aterosclerótica.....	<b>29</b>
<b>Figura 2</b> – Representação esquemática dos oxidantes e enzimas antioxidantes.....	<b>35</b>
<b>Figura 3</b> – Esquema da biossíntese do colesterol. Inibição da HMG CoA redutase	<b>37</b>
<b>Figura 4</b> - O zinco como agente antiinflamatório e antioxidante.....	<b>43</b>
<b>Figura 5</b> - Regulação da ativação do NF-κB pelas selenoenzimas.....	<b>47</b>
<b>Figura 6</b> - Fluxograma de atividades desenvolvidas para seleção e acompanhamento de pacientes.....	<b>57</b>
<b>Figura 7</b> – Distribuição das amostras de sangue nos tubos para dosagens bioquímicas.....	<b>64</b>
<b>Figura 8</b> - Classificação do IMC dos pacientes dos grupos suplementado (A) e placebo (B) - Serviço de Hemodinâmica – Natal Hospital Center - Natal/RN.....	<b>77</b>
<b>Figura 9</b> - Classificação da circunferência abdominal, dos pacientes dos grupos suplementado (A) e placebo (B) - Serviço de Hemodinâmica – NHC - Natal/RN...	<b>77</b>
<b>Figura 10</b> - Ingestão de calorias e macronutrientes dos pacientes dos grupos suplementado (A) e placebo (B) - Serviço de Hemodinâmica – NHC - Natal/RN.....	<b>79</b>
<b>Figura 11</b> - Prevalência de inadequação de selênio considerando os valores de ingestão bruta e ajustada dos pacientes do <b>grupo placebo</b> - Serviço de Hemodinâmica – NHC - Natal/RN.....	<b>81</b>
<b>Figura 12</b> - Prevalência de inadequação de zinco considerando os valores de ingestão bruta e ajustada dos pacientes do <b>grupo placebo</b> distribuídos por gênero - Serviço de Hemodinâmica – NHC - Natal/RN.....	<b>81</b>
<b>Figura 13</b> - Concentrações de PCR-as dos pacientes dos grupos suplementado e placebo - Serviço de Hemodinâmica – NHC - Natal/RN.....	<b>86</b>
<b>Figura 14</b> - Concentrações de IL-6 dos pacientes dos grupos suplementado e placebo - Serviço de Hemodinâmica – NHC - Natal/RN.....	<b>86</b>



**LISTA DE TABELAS**

<b>Tabela 1</b> - Classificação do IMC para adultos, segundo a WHO (2004).....	<b>61</b>
<b>Tabela 2</b> - Pontos de corte estabelecidos pela WHO para medida da circunferência abdominal e sua relação com o risco para as doenças cardiovasculares.....	<b>62</b>
<b>Tabela 3</b> - Características clínicas e hábitos de vida dos pacientes dos grupos suplementados e placebo - Serviço de Hemodinâmica – NHC - Natal/RN.....	<b>76</b>
<b>Tabela 4</b> - Dados antropométricos dos pacientes dos grupos suplementado e placebo - Serviço de Hemodinâmica – NHC - Natal/RN.....	<b>77</b>
<b>Tabela 5</b> - Ingestão dietética de calorias e macronutrientes dos grupos de pacientes com aterosclerose - Serviço de Hemodinâmica – NHC - Natal/RN.....	<b>79</b>
<b>Tabela 6</b> - Ingestão dietética de zinco e selênio dos pacientes dos grupos suplementado e placebo, atendidos no Serviço de Hemodinâmica – NHC - Natal/RN.....	<b>80</b>
<b>Tabela 7</b> – Glicemia de jejum, perfil lipídico e função hepática dos pacientes dos grupos suplementado e placebo - Serviço de Hemodinâmica – NHC - Natal/RN.....	<b>83</b>
<b>Tabela 8</b> - Concentrações de zinco e selênio no plasma e eritrócito dos pacientes dos grupos suplementado e placebo - Serviço de Hemodinâmica – NHC - Natal/RN.....	<b>84</b>
<b>Tabela 9</b> - Concentrações de LDL(-), Ac Anti LDL(-) e Imunocomplexos Ac-LDL(-) e atividade da SOD e GPx dos pacientes dos grupos suplementado e placebo - Serviço de Hemodinâmica – NHC - Natal/RN.....	<b>85</b>

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ALT	Alanina Aminotransferase
AST	Aspartato Aminotransferase
BHT	Hidroxitolueno butilato
CAT	Catalase
CDF	<i>Cation diffusion facilitation</i>
DCT-1	<i>Divalent cation transport – 1</i>
DRI	<i>Dietary Reference Intakes</i>
EAR	<i>Estimated Average Requeriment</i>
ECA	Enzima Conversora de Angiotensina
EDHF	Fator hiperpolarizador derivado do endotélio
ELISA	<i>Enzyme linked immunosorbent assay</i>
eNOS	Óxido nítrico sintase endotelial
FGF -2	Fator de crescimento de fibroblasto 2
FNB	<i>Food and Nutrition Board</i>
GPx	Glutationa peroxidase
GSH	Glutationa reduzida
GSR	Glutationa redutase
GSSG	Glutationa oxidada
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Peróxido de hidrogênio
HCl	Ácido clorídrico
HDL	Lipoproteína de alta densidade
HMG-CoA	Hidroximetil glutaril coenzima A
HPLC	<i>High Performance/Pressure Liquide Chromatography</i>
HUOL	Hospital Universitário Onofre Lopes
ICAM	Molécula de adesão intracelular
IFN $\gamma$	Interferon- $\gamma$
IL	Interleucina
IMC	Índice da Massa Corporal
INT	2-(4-iodofenil)-3-(4nitrofenol)-5-cloreto de feniltetrazol
IOM	<i>Institute of Medicine</i>

IPP	Isopentenilpirofosfato
KLF	<i>Factor Krüppel-Like</i>
LDL	Lipoproteína de baixa densidade
LDL(-)	Lipoproteína de baixa densidade eletronegativa
LDLmm	Lipoproteína de baixa densidade minimamente modificada
LDLn	Lipoproteína de baixa densidade nativa
LDLox	Lipoproteína de baixa densidade oxidada
Lp(a)	Lipoproteína (a)
MAb	Anticorpos monoclonais
MCH	Complexo principal de histocompatibilidade
MCP	Molécula quimioatrativa de monócitos
M-CSF	Fator estimulante de colônia de macrófagos
MDA	Malonildialdeído
NaBH <sub>4</sub>	Borohidreto de sódio
NADPH	Nicotinamida adenina dinucleotídio fosfato
NCEP	<i>National Cholesterol Education Program</i>
NF-κB	Fator nuclear <i>Kappa B</i>
NHC	Natal Hospital Center
NK	<i>Natural killer</i>
·NO	Óxido Nítrico
O <sub>2</sub> <sup>-</sup>	Radical superóxido
·OH	Radical hidroxila
ONOO <sup>-</sup>	Peroxinitrito
OPD	Orto-fenilenediamina
PCR	Proteína C reativa
PCR-as	Proteína C reativa de alta sensibilidade
PDGF	Fator de crescimento derivado de plaquetas
PMSF	Fenil-metil sulfonil fluoreto
PPAR	Receptor ativado por proliferador de peroxisomo
RDA	<i>Recommended Dietary Allowance</i>
SBAC	Sociedade Brasileira de Análises Clínicas
SBC	Sociedade Brasileira de Cardiologia
SBD	Sociedade Brasileira de Diabetes

ScR	Receptor <i>scavenger</i>
SeC	Selenocisteína
Sel	Selenoproteína
SeO(OH) <sub>2</sub>	Selenito
SeO <sub>2</sub> (OH) <sub>2</sub>	Selenato
SLC	<i>Solute carrier family</i>
SOD	Superóxido dismutase
sPLA <sub>2</sub>	Fosfolipase secretória
T3	Triiodotironina
T4	Tiroxina
TAS	Antioxidante total do plasma
TBARS	Ácido tiobarbitúrico
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
T <sub>H</sub> 1	Linfócitos T <i>helper</i> 1
TLR	Receptor <i>Toll Like</i>
TMB	Tetrametilbenzidina
TNF $\alpha$	Fator de necrose tumoral $\alpha$
UFRN	Universidade Federal do Rio Grande do Norte
UL	<i>Tolerable Upper Intake Level</i>
USDA	<i>United States Department of Agriculture</i>
USP	Universidade de São Paulo
VCAM	Molécula de adesão de células vasculares
WHO	<i>World Health Organization</i>
XO	Xantina oxidase
ZIP	<i>Zrt-irt-like protein</i>

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO .....</b>	<b>23</b>
<b>2. REVISÃO DE LITERATURA .....</b>	<b>25</b>
2.1. Aterosclerose .....	25
2.1.1. Epidemiologia, definições e fatores de risco .....	25
2.1.2. Mecanismos fisiopatológicos da aterosclerose – papel da lesão endotelial, inflamação e estresse oxidativo .....	26
2.1.3. As estatinas e o tratamento da aterosclerose .....	36
2.2. Os minerais zinco e selênio: metabolismo, funções e as relações com a aterosclerose .....	39
2.2.1. Zinco .....	39
2.2.2. Selênio .....	44
2.3. Estudos sobre <i>status</i> de zinco e selênio e suplementação em pacientes com aterosclerose .....	48
<b>3. OBJETIVOS .....</b>	<b>54</b>
3.1. Objetivo Geral .....	54
3.2. Objetivos Específicos .....	54
<b>4. MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>55</b>
4.1. Protocolo Experimental .....	55
4.1.1. Aspectos Éticos .....	56
4.2. Composição preparo da suplementação de zinco + selênio ou placebo.....	58
4.3. Controle do “cegamento” do estudo .....	59
4.4. Administração da suplementação de zinco + selênio ou placebo/Estatinas.....	60
4.5. Avaliação Antropométrica .....	61
4.5.1. Índice de Massa Corporal (IMC) .....	61
4.5.2. Circunferência Abdominal.....	61
4.6. Avaliação Dietética .....	62
4.7. Materiais e procedimentos laboratoriais .....	63
4.7.1. Lavagem de material .....	63

4.7.2. Reagentes .....	63
4.7.3. Coleta do material biológico .....	64
4.8. Análises Bioquímicas .....	65
4.8.1. Avaliação da glicemia, perfil lipídico e enzimas hepáticas .....	65
4.8.2. Avaliação bioquímica do zinco e selênio .....	65
4.8.2.1. Material de Referência .....	65
4.8.2.2. Determinação do zinco plasmático e eritrocitário .....	66
4.8.2.3. Determinação do selênio plasmático e eritrocitário .....	67
4.8.3. Determinação da hemoglobina no eritrócito .....	68
4.8.4. Avaliação da LDL (-), Ac anti-LDL (-) e Imunocomplexos Ac-LDL (-) .....	68
4.8.4.1. ELISA para a determinação da LDL (-) .....	68
4.8.4.2. ELISA para a determinação de Ac anti LDL (-) .....	69
4.8.4.3. ELISA para a determinação de imunocomplexos Ac-LDL (-)....	70
4.8.5. Avaliação de enzimas antioxidantes .....	71
4.8.5.1. Determinação da atividade da GPx .....	71
4.8.5.2. Determinação da atividade da SOD .....	71
4.8.6. Avaliação dos marcadores de inflamação .....	72
4.8.6.1. Determinação da PCR-as .....	72
4.8.6.2. Determinação da IL-6 .....	72
4.9. Análises Estatísticas .....	72
4.9.1. Avaliação dos dados dietéticos.....	73
<b>5. RESULTADOS .....</b>	<b>75</b>
5.1. Caracterização da população estudada .....	75
5.2. Avaliação Antropométrica .....	76
5.3. Avaliação Dietética .....	78
5.4. Avaliação da glicemia, perfil lipídico e função hepática .....	82
5.5. Avaliação do <i>status</i> de zinco e selênio .....	83
5.6. Avaliação da LDL (-), Ac Anti LDL (-) e Imunocomplexos Ac-LDL (-) e enzimas antioxidantes.....	84
5.7. Avaliação dos marcadores de inflamação .....	85

<b>6. DISCUSSÃO.....</b>	<b>87</b>
6.1 Caracterização da população estudada: avaliação antropométrica, dietética e perfil lipídico.....	87
6.1.1. Avaliação Antropométrica.....	88
6.1.2. Avaliação Dietética.....	89
6.1.3. Perfil lipídico.....	91
6.2 Avaliação do <i>status</i> dos minerais zinco e selênio: efeitos do uso da rosuvastatina e suplementação de zinco e selênio.....	93
6.2.1 Zinco.....	93
6.2.2. Selênio.....	99
6.3 Avaliação da LDL (-), Ac Anti LDL(-) e Imunocomplexos Ac-LDL(-) e enzimas antioxidantes: efeitos do uso da rosuvastatina e suplementação de zinco e selênio.....	107
6.4 Avaliação dos marcadores de inflamação: efeitos do uso da rosuvastatina e suplementação de zinco e selênio.....	114
<b>7. CONCLUSÕES.....</b>	<b>118</b>
<b>8. REFERÊNCIAS.....</b>	<b>119</b>
<b>ANEXOS.....</b>	<b>154</b>

## 1. INTRODUÇÃO

A aterosclerose é uma doença multifatorial crônica, cujo processo envolve o endotélio arterial, podendo ser causada por uma resposta inflamatória ou estresse oxidativo, desencadeados, principalmente, por partículas de lipoproteína de baixa densidade oxidada (LDLox), infecção crônica e formação de radicais livres (LIBBY *et al*, 2002). Neste contexto, a resposta inflamatória, a disfunção endotelial, bem como o estresse oxidativo, são fatores ligados a aterogênese, intermediando a relação entre os fatores de risco e a indução da formação da placa de ateroma (LUSIS, 2000).

Os indivíduos mais susceptíveis à aterosclerose são àqueles que apresentam alguns fatores de risco como *diabetes mellitus*, hipertensão arterial, tabagismo e dislipidemia. A história familiar de doenças cardiovasculares em homens com idade inferior a 55 anos e em mulheres com 65 anos, sedentarismo, estresse, depressão, dieta inadequada e obesidade, também estão associadas ao maior risco de aterosclerose (SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA (SBC), 2007).

A elevada incidência dessa doença também parece ser um reflexo da transição nutricional, que é caracterizada pela diminuição da prevalência de desnutrição e pelo aumento do sobrepeso/obesidade, resultante da inatividade física e das mudanças no padrão alimentar, tais como: aumento do consumo de gorduras, açúcar e alimentos refinados, e redução de carboidratos complexos e fibras. Excessos de ácidos graxos saturados, ácidos graxos *trans* e colesterol dietético estão associados às elevações no colesterol total, em especial a lipoproteína de baixa densidade (LDL) (CARVALHO; ALFENAS, 2008).

Os compostos com ação antioxidante previnem ou retardam a oxidação de substratos envolvidos nas reações de estresse oxidativo, protegendo a vasculatura contra a ação de espécies reativas de oxigênio e nitrogênio, dentro e fora das células, além de participarem da diminuição da resposta inflamatória. As enzimas superóxido dismutase (SOD) e a glutathione peroxidase (GPx) contribuem para a defesa antioxidante, assim como os antioxidantes não-enzimáticos: ácido ascórbico, beta-caroteno, ferritina, transferrina e ceruloplasmina (STOCKER; KEANEY, 2004).

Em se tratando do zinco e do selênio, os trabalhos publicados por Henning *et al* (1999<sup>a</sup>) e Navarro-Alarcón e López-Martínez (2000) mostraram que estes minerais são importantes para a manutenção da integridade endotelial, pois apresentam ação antiaterogênica, por inibir eventos relacionados ao estresse oxidativo e à inflamação. Outros autores relacionam o efeito protetor do zinco no endotélio vascular, por meio do seu papel



antioxidante e estabilizador das membranas celulares, além da sua participação na atividade do fator nuclear *Kappa B* (NF- $\kappa$ B), das enzimas caspase e óxido nítrico sintase (BEATTIE; KWUN, 2004). O selênio, por outro lado, também pode diminuir a resposta do NF- $\kappa$ B ao mecanismo de pró-inflamação da célula endotelial, limitando o aparecimento da aterosclerose (ZHANG *et al*, 2002). Mesmo diante da relevância do zinco e selênio para o organismo, tem-se observado que os pacientes com doenças crônicas apresentam diminuição das concentrações séricas destes elementos, induzidas pelo uso de medicamentos ou provocadas por alterações metabólicas peculiares da doença, que aumentam as necessidades de minerais, nem sempre supridas pela ingestão alimentar (GHAYOUR-MORBARHAN *et al*, 2005).

No que se refere ao tratamento de pacientes com aterosclerose, os fármacos de escolha são as estatinas, pois, além de diminuírem as concentrações de colesterol sérico, apresentam uma série de ações vasculares protetoras, atuando ainda na redução do estresse oxidativo e inflamação, favorecendo uma proteção da LDL contra a oxidação (ENDRES, 2006, ATHYROS *et al*, 2009). Apesar dos efeitos benéficos, colateralidades são descritas (BOTTORF, 2006), e alguns estudos ressaltam as interações entre o uso das estatinas e o comprometimento no *status* de minerais (ALISSA *et al*, 2006) ou da sua biodisponibilidade (MOOSMAN; BEHL, 2004<sup>a</sup>).

Tendo em vista os efeitos do zinco e do selênio sobre o estresse oxidativo e resposta imune, Mocchegiani *et al* (2008<sup>a</sup>) recomendam uma suplementação oral combinada desses elementos, ressaltando a importância de se utilizar doses seguras, para evitar toxicidade.

*Diante destas considerações, formularam-se as seguintes hipóteses que serão testadas neste estudo: Existe comprometimento do status dos minerais zinco e selênio em pacientes com aterosclerose apresentando angina estável tratados com rosuvastatina? A suplementação com os minerais zinco e selênio, concomitante ao uso da rosuvastatina, influencia na atividade antioxidante e antiinflamatória, bem como no status de minerais?*

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 ATEROSCLEROSE

#### 2.1.1. Epidemiologia, definições e fatores de risco

Dados publicados pela *World Health Organization* (WHO) (2009) indicam que em 2004 as doenças cardiovasculares foram as principais causas de mortalidade no mundo, principalmente, atribuída ao infarto agudo do miocárdio e ao acidente vascular cerebral, correspondendo a cerca de 13 milhões de óbitos. Em sociedades ocidentais, 50% das mortes estão relacionadas a este grupo de doenças (LUSIS, 2000). Na Europa, em 2005, as doenças cardiovasculares foram responsáveis por 4,35 milhões de óbitos, correspondendo a 43% de todas as mortes em homens e 55% em mulheres de todas as idades (PERK, 2009).

No Brasil, o quadro não é diferente, uma vez que as doenças cardiovasculares aparecem em primeiro lugar entre as causas de mortalidade, representando quase um terço dos óbitos totais e 65% do total de mortes na faixa etária de 30 a 69 anos de idade, atingindo a população adulta em plena fase produtiva (BRASIL, 2006).

No Estado do Rio Grande do Norte, especificamente, informações do Departamento de Informática do Sistema Único de Saúde indicam que as doenças cardiovasculares representam pouco mais de 6% das internações hospitalares nos últimos quatro anos, totalizando 11.230 no ano de 2006. As doenças do aparelho circulatório aparecem em 4º lugar em número de internações, ficando abaixo das doenças infecciosas e parasitárias (16,29%), das respiratórias (12,65%) e das digestivas (7,41%). Em 2006, segundo dados do Sistema de Informação de Mortalidade, a cada 100 óbitos ocorridos no Rio Grande do Norte, 47,6% correspondiam às doenças isquêmicas do coração, seguindo-se das doenças cerebrovasculares (38,7%) (BRASIL, 2009).

As doenças cardiovasculares podem ser amplamente classificadas em doença arterial coronariana, doença cerebrovascular e doença vascular periférica, as quais se constituem em formas clínicas da aterosclerose. A placa aterosclerótica é uma situação comum a todos estes casos, sendo responsável pela oclusão de vasos sanguíneos e interrupção do fluxo de sangue para o coração, cérebro e vasos periféricos (FERON; FAUX, 2009).

Dentro deste contexto, a aterosclerose é considerada uma doença inflamatória crônica de origem multifatorial que ocorre em resposta à agressão endotelial, acometendo principalmente a camada íntima de artérias de médio e grande calibre, caracterizada pelo

acúmulo de depósitos de colesterol nos macrófagos (STOCKER; KEANEY, 2004; SCHOEN, 2005).

Inúmeros fatores podem contribuir para a degeneração da parede arterial, sendo evidente que a intensidade e duração das agressões determinam a gravidade das alterações. Os estudos prospectivos apontam como principais fatores de risco para a aterosclerose, assim como para a cardiopatia isquêmica resultante, a idade, o gênero e a predisposição genética, classificados como constitucionais. Incluem-se ainda os fatores que potencialmente respondem a mudanças, tais como: a dislipidemia, a hipertensão arterial, a obesidade, a composição da dieta, a inatividade física, o tabagismo e o *diabetes mellitus*. (MOZAFFARIAN; WILSON; KANNEL, 2008; PERK, 2009). Além destes, a homocistinúria, a fibrinólise, a inflamação e os níveis elevados de lipoproteína(a) (Lp(a)), encontram-se também associados ao desenvolvimento da aterosclerose (RADER; DAUGHERTY, 2008).

Em geral, os pacientes com doença aterosclerótica obstrutiva significativa, ou seja, com estenose de  $\geq 70\%$  da luz do vaso em pelo menos um segmento de uma das artérias epicárdicas maiores, ou estenose  $\geq$  de 50% do diâmetro do tronco da coronária esquerda, podem apresentar um quadro de angina. Esta síndrome clínica é caracterizada por dor ou desconforto em qualquer das seguintes regiões: tórax, epigástrio, mandíbula, ombro, dorso ou membros superiores, provocada por um desequilíbrio na relação da oferta-consumo de oxigênio no miocárdio, sendo tipicamente desencadeada ou agravada com atividade física, ou estresse emocional e atenuada com o uso de nitroglicerina e derivados. A angina é dita estável quando é desencadeada por esforço físico sem apresentar piora evolutiva em um período de várias semanas (SBC, 2004; ABRAMS, 2005; JAWAD; ARORA, 2008).

### **2.1.2. Mecanismos fisiopatológicos da aterosclerose – Papel da lesão endotelial, inflamação e estresse oxidativo**

Várias são as hipóteses que explicam os processos associados ao desenvolvimento da aterosclerose. A hipótese da resposta à injúria aponta a lesão do endotélio vascular como o evento inicial do processo de aterosclerose. Em contraste, a teoria da resposta à retenção coloca as interações entre as lipoproteínas e a matriz endotelial como o ponto crítico da aterosclerose, enquanto que a hipótese da modificação oxidativa ressalta a importância da oxidação da LDL como o principal fator desencadeante da doença. Embora as diferentes

teorias direcionem mecanismos diversos para explicar a aterosclerose, existem pontos comuns, como por exemplo, o envolvimento da inflamação e a LDL como partícula central no processo (STOCKER; KEANEY, 2004).

O endotélio vascular está envolvido na regulação da maioria das funções exercidas pela parede vascular, uma vez que é responsável pela secreção de agentes vasoativos, como os vasodilatadores óxido nítrico ( $\text{NO}$ ), prostaciclina, fator hiperpolarizador derivado do endotélio (EDHF), e os vasoconstrictores endotelina-1, angiotensina II e tromboxano  $\text{A}_2$  (GIANNOTTI; LANDMESSER, 2007; HIGASHI *et al*, 2009).

No entanto, a agressão endotelial por fatores de risco clássicos para as doenças cardiovasculares, principalmente a LDL e outras lipoproteínas que contêm apolipoproteína B, como a lipoproteína Lp(a), induz ao início de processos inflamatórios crônicos que são acompanhados pela ausência de fatores vasodilatadores e antitrombóticos e aumento de produtos vasoconstrictores e pró-trombóticos, caracterizando a disfunção endotelial (WIDLANSKY *et al*, 2003). Este quadro não se limita apenas às alterações no tônus vascular, mas também àqueles relacionados ao crescimento de células musculares lisas vasculares, adesão de monócitos, função plaquetária e atividade fibrinolítica, resultando em características pró-inflamatórias, proliferativas e pró-coagulatórias, que culminam com o desenvolvimento e progressão da aterosclerose (BONETTI; LERMAN; LERMAN, 2003; LAHERA *et al*, 2007).

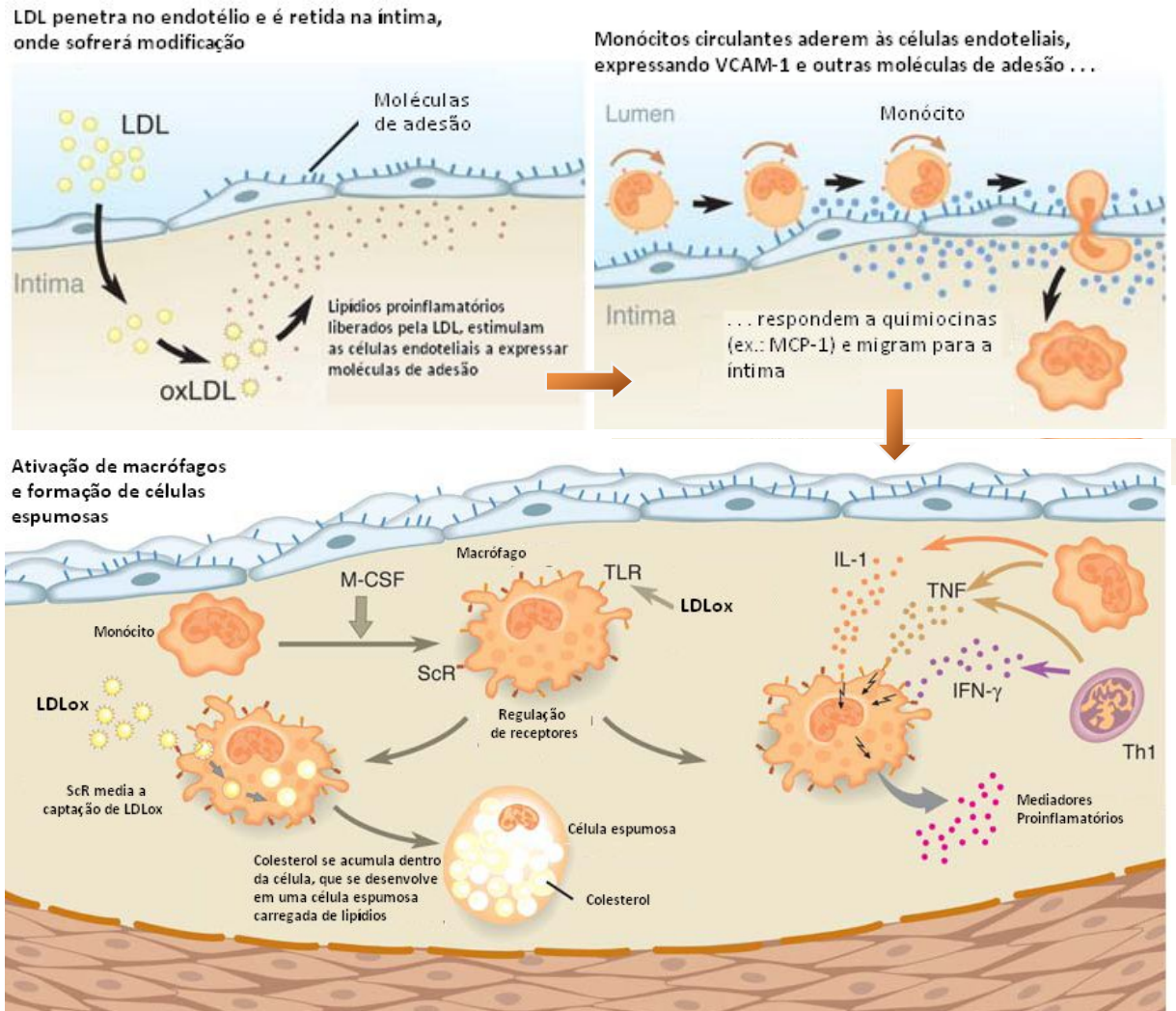
Na fase inicial da aterosclerose, diante da disfunção endotelial, uma cascata de eventos é desencadeada pela interação entre monócitos e as células endoteliais ativadas. A primeira fase, denominada de rolamento, estabelece o contato inicial entre os monócitos e a superfície endotelial. A segunda fase chamada de adesão é caracterizada pela ativação de monócitos, causada por quimiotáticos que desencadeiam a expressão de moléculas de adesão (molécula de adesão de células vasculares – VCAM-1 e molécula de adesão intercelular – ICAM, E-selectina, P-selectina), que se conectam aos monócitos firmemente. Uma vez aderidos, estes podem espalhar-se na superfície do endotélio, originando a terceira fase, denominada de transmigração, ou seja, a migração para as junções intercelulares e, posteriormente, para o espaço subendotelial (**Figura 1**) (RAO *et al*, 2007).

Após a adesão, os monócitos e linfócitos T migram entre as células endoteliais para se alojarem na camada íntima. Esta migração subendotelial é ativada pela presença de mediadores bioativos denominados quimioatrativos, dentre estes se destacam a LDLox, a Lp(a), e as citocinas (proteína quimioatrativa de monócito (MCP-1) e seu receptor (CCR-2), interleucina-1 (IL-1), fator de necrose tumoral- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) (FAN; WATANABE, 2003;

QUEHENBERGER, 2005). Posteriormente, os monócitos se diferenciam em macrófagos, induzidos pelo fator estimulante de colônia de macrófago (M-CSF), uma citocina/fator de crescimento produzido pelas células inflamadas da íntima (LIBBY, 2002; YAN; HANSSON *et al*, 2007). Este mecanismo sinaliza para o aumento da regulação de receptores denominados *scavenger* (ScR) e *toll-like* (TLR). Os ScR irão mediar a internalização da LDL, que leva à formação da célula espumosa, enquanto que os receptores TLR, transmitem sinais de ativação, culminando na liberação de citocinas, proteases e moléculas vasoativas (**Figura 1**) (HANSSON; ROBERTSON; SÖDERBERG-NAUCLÉR, 2006).

As partículas de LDL necessitam estar extensivamente modificadas para serem captadas pelos macrófagos e formarem as células espumosas. Estas modificações envolvem a ação de espécies reativas de oxigênio produzidas pelas células endoteliais e macrófagos, e ainda as enzimas mieloperoxidase, esfingomielinase e fosfolipase secretória (sPLA2) também podem ativar o processo. Nesta perspectiva, as partículas de LDL uma vez oxidadas, são responsáveis pela atração de monócitos circulantes que migram para a região subendotelial, aumentando a extensão das estrias gordurosas compostas por células espumosas, impedindo a saída dos macrófagos já presentes no espaço subendotelial, levando à lesão no endotélio por ação tóxica direta (LUSIS, 2000).

O conjunto destes eventos favorece a progressão da resposta inflamatória, tornando a lesão mais complexa, capaz de ocasionar as manifestações clínicas, como a *angina pectoris*. Os macrófagos, por outro lado, também contribuem para a evolução fibroproliferativa da lesão aterosclerótica, pois secretam citocinas como a IL-1, o TNF- $\alpha$  e fatores de crescimento derivado das plaquetas (PDGF), estimulando a replicação das células musculares lisas, deposição e agregação de plaquetas, responsáveis pelo crescimento da lesão e formação da placa aterosclerótica (**Figura 1**) (LIBBY, 2002; INSULL, 2009).



Fonte: Adaptado de Hansson; Robertson; Söderberg-Nauclér (2006).

**Figura 1** – Eventos iniciais para o desenvolvimento da placa aterosclerótica

Uma placa aterosclerótica típica consiste de um núcleo lipídico ou necrótico na porção central, coberto por uma capa fibrosa formada por uma mistura de células musculares lisas e matriz celular. Na base da lesão, frequentemente, encontram-se ainda macrófagos derivados das células espumosas e linfócitos T. Basicamente, dois tipos de placas podem ser morfologicamente diferenciadas por apresentarem importante relevância clínica. A placa estável é usualmente composta por um pequeno núcleo lipídico, coberto por uma espessa capa fibromuscular com mais células musculares lisas e matriz extracelular. A placa instável, por sua vez, contém um núcleo lipídico mais denso e uma capa fibrótica fina com grande número de células inflamatórias (FAN; WATANABE, 2003).

Outros fatores do processo inflamatório da aterosclerose são as citocinas pró-inflamatórias e quimiocinas produzidas mediante o estímulo do NF- $\kappa$ B. Este fator de

transcrição está envolvido na regulação dos genes da resposta inflamatória, apoptose, proliferação celular e no aumento das espécies reativas de oxigênio, sendo encontrado ativado na placa aterosclerótica, nas células musculares lisas e macrófagos (WINTHER *et al*, 2005). Dentre as citocinas e quimiocinas envolvidas, ressalta-se a participação da IL-6 e seus eventos de sinalização, tanto no desenvolvimento da placa, quanto na desestabilização, por meio de diferentes mecanismos, que envolvem a expressão de MCP-1 e TNF- $\alpha$  (ARMSTRONG; MORROW; SABATINE, 2006; SCHUETT *et al*, 2009).

A IL-6 é produzida pelos linfócitos, monócitos, fibroblastos, células musculares lisas e endoteliais, e pode ser responsável pelo estímulo à expressão de enzimas de degradação de matriz, receptores de LDL em macrófagos, agregação plaquetária e proliferação de células musculares lisas (ITO; IKEDA, 2003). Além disso, a IL-6 é responsável pela indução da síntese da proteína C reativa (PCR) pelos hepatócitos (ITO; IKEDA, 2003; WILSON; TRYAN; BOYLE, 2006).

Diante da participação da IL-6 na resposta inflamatória, alguns estudos têm relacionado os níveis séricos desta citocina com o aumento do risco de infarto agudo do miocárdio em populações (RIDKER *et al*, 2000), estando associada a um prognóstico desfavorável em pacientes com doença arterial coronariana (IKEDA; ITO; SHIMADA, 2001; ITO; IKEDA, 2003). Biasucci *et al* (1999) observaram que dentre os pacientes com angina instável, o aumento nas concentrações de IL-6 que ocorria 48 horas após a internação, estava associado à morte, infarto do miocárdio e angina refratária.

Alguns autores também observaram que os pacientes submetidos à angioplastia transluminal percutânea, apresentavam concentrações aumentadas de IL-6, indicando envolvimento no mecanismo de reestenose pós-angioplastia, por induzir o processo inflamatório no local da lesão (HOJO *et al*, 2000; HOJO *et al*, 2001). Estes resultados sugerem que as concentrações elevadas de IL-6 podem identificar pacientes em situações mais graves que se beneficiarão com terapias mais agressivas, porém, as variações circadianas desta citocina podem limitar o uso deste marcador na avaliação de pacientes com síndromes coronarianas agudas (ARMSTRONG *et al* 2006).

Além das citocinas, as proteínas de fase aguda positivas, principalmente a PCR, têm envolvimento na patogênese da aterosclerose, sendo apontadas como marcadores de risco preditivo para as doenças cardiovasculares, em especial para os eventos ateroscleróticos (WILSON; TRYAN; BOYLE, 2006; MONTEBUCCO; MACH, 2008; CALABRÒ; GOLIA; YEH, 2009). A PCR é produzida no fígado, por meio do estímulo de citocinas, principalmente

a IL-6, IL-1 e TNF- $\alpha$  (VOLANAKIS, 2001), embora, achados recentes indiquem que a PCR seja produzida também nas placas ateroscleróticas (MONTEBUCCO; MACH, 2008).

Esta proteína pode participar em várias fases do processo inflamatório da aterosclerose, desde o recrutamento de leucócitos circulantes para a parede arterial, até a ruptura de placas instáveis que resultam nas manifestações clínicas da doença, por influenciar processos como a disfunção endotelial, efeitos relacionados aos lipídios, angiogênese, apoptose, trombose, ativação do complemento, recrutamento e ativação de monócitos (de MAAT; TRION, 2004; FERRI *et al*, 2007).

Estudo conduzido por Pasceri *et al* (2001) demonstrou que a PCR é capaz de induzir o aumento da expressão de moléculas de adesão nas células endoteliais e do MCP-1. Ainda, a PCR pode alterar a biodisponibilidade de  $\bullet$ NO por influenciar na redução na expressão da sua proteína sintetizadora, óxido nítrico sintase endotelial (eNOS), bem como estimular a captação de LDLox (VENUGOPAL *et al*, 2002; CHANG *et al*, 2002). Outros pesquisadores mostram que a PCR pode estar relacionada com estágios mais avançados da lesão, por produzir peptídios que influenciam na progressão do ateroma e ruptura da placa, resultando em trombose clínica e subclínica (YU; RIFAI, 2000).

O desenvolvimento de técnicas laboratoriais mais sensíveis tem permitido avaliar concentrações séricas de PCR muito baixas, tornando a análise da PCR de alta sensibilidade (PCR-as) mais indicada para se diagnosticar o risco cardiovascular, por detectar baixos níveis de inflamação (CALABRÒ; GOLIA; YEH, 2009). Estudos clínicos indicam que em pacientes com angina instável e elevadas concentrações de PCR-as, as placas da carótida são menos estáveis, o que pode resultar em um rápido crescimento e instabilidade da placa aterosclerótica (LOMBARDO *et al*, 2004). Auer *et al* (2002) encontraram que as concentrações de PCR eram maiores em pacientes com angina instável que apresentaram infarto agudo do miocárdio, em comparação com aqueles pacientes que apresentavam angina estável, sugerindo que ocorre uma ativação de mecanismos de inflamação em pacientes com síndromes coronarianas agudas.

Embora a disfunção do endotélio vascular e a resposta inflamatória sejam eventos intimamente ligados à aterosclerose, a teoria da modificação oxidativa propõe uma importância particular dos eventos oxidativos e das reações redox na gênese da doença vascular, por intermediar a relação entre os fatores de risco e a indução da formação da placa de ateroma (STOCKER; KEANEY, 2004).

As reações em que estão envolvidas uma variedade de enzimas, como a nicotinamida-adenina dinucleotídeo fosfato (NADPH) oxidase, xantina oxidase (XO), eNOS,



ciclooxigenase, glicose oxidase, lipooxigenase e a cadeia de transporte de elétrons mitocondrial, nas células musculares lisas, endoteliais e mononucleares, favorecem a geração de espécies reativas de oxigênio e nitrogênio. A produção destes compostos em desequilíbrio com a capacidade antioxidante da célula desencadeia os processos de estresse oxidativo, tornando a parede celular susceptível aos danos, provocados por mecanismos envolvidos na aterogênese, como a ativação de diversas vias de sinalização celular e fatores de transcrição redox-sensíveis, os quais potencializam a susceptibilidade da placa à ruptura (SINGH; JIALAL, 2006; VOGIATZI; TOUSOULIS; STEFANADIS, 2009; HIGASHI *et al*, 2009).

Por outro lado, os oxidantes desempenham papel fundamental na homeostase e função vascular, por influenciar na proliferação, apoptose e sobrevivência das células endoteliais e musculares lisas. O funcionamento normal do endotélio é caracterizado pelo balanço dinâmico entre o  $\bullet\text{NO}$  e outros oxidantes, incluindo o radical superóxido ( $\text{O}_2^-$ ) e o peróxido de hidrogênio ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ). Considerando a alta reatividade entre as espécies de oxigênio e nitrogênio, particularmente entre o  $\text{O}_2^-$  e o  $\bullet\text{NO}$  e a formação de peroxinitrito ( $\text{ONOO}^-$ ), um denominador comum do estresse oxidativo vascular é a redução da bioatividade do  $\bullet\text{NO}$ , com consequente tendência à vasoconstrição, aumento da adesividade plaquetária e expressão de moléculas de adesão da parede vascular (FENSTER; TSAO; ROCKSON, 2003; HIGASHI *et al*, 2009).

Nesta perspectiva, estes produtos podem ter efeitos deletérios sobre a função vascular por basicamente 3 mecanismos: (1) os radicais hidroxila ( $\bullet\text{OH}$ ) podem causar dano direto nas membranas e núcleo celular; (2) podem interagir com mediadores vasoativos endógenos nas células endoteliais, modulando a vasomotricidade; (3) favorecem a peroxidação de componentes lipídicos, levando à formação de LDLox, um dos mediadores chaves da aterosclerose (BONOMINI *et al*, 2008).

O aumento da concentração de LDL no compartimento plasmático pode ocorrer em decorrência de uma dieta rica em gorduras saturadas (KATCHER *et al*, 2009), aumento da síntese endógena de colesterol ou, em especial, pela diminuição do catabolismo da LDL no fígado, causado por um problema genético que promove deficiência na expressão ou na função dos seus receptores, resultando em hipercolesterolemia familiar. Estes fatores genéticos, associados aos fatores de risco modificáveis, principalmente os dietéticos, determinam as concentrações de LDL no plasma (ORDOVAS; KAPUT; CORELLA, 2007). Esta partícula, quando oxidada, pode contribuir para a aterogênese, por auxiliar o recrutamento de monócitos circulantes para a camada íntima; inibir o efluxo de macrófagos da camada íntima e aumentar a captação de lipoproteínas com a formação das células espumosas,

além de ser citotóxica e induzir a perda da integridade do endotélio (PARTHASARATHY *et al*, 2001; ROSENSON, 2004).

O termo LDLox é utilizado para descrever uma variedade de preparações utilizadas *ex vivo* para modificar oxidativamente a LDL ou quando esta partícula modificada é isolada de fontes biológicas. As LDLox podem ser divididas em 2 categorias: LDL minimamente modificada (LDLmm) ou eletronegativa (LDL(-)) e LDLox que se apresenta extensivamente modificada. A principal diferença entre estas duas categorias é que a LDLmm ou LDL (-), embora distinta quimicamente da LDL não modificada ou LDL nativa (LDLn), é ainda reconhecida pelo receptor de LDL, mas tem afinidade baixa pela maioria dos ScRs. Por outro lado, a LDLox é reconhecida pelos ScRs e não pelo receptor de LDL (LEVITAN; TVOLKOV; SUBBAIAH, 2009).

A LDL (-) é mais densa e susceptível à oxidação que a LDLn, apresenta menores concentrações de vitamina E, aumento de substâncias reativas do ácido tiobarbitúrico (TBARS) e dienos conjugados, apolipoproteína B agregada e menor afinidade pelos receptores de LDL (SÁNCHEZ-QUESADA; BENÍTEZ; ORDÓÑEZ-LLANOS 2004). Diferentemente da LDL oxidada *in vitro*, a LDL (-) não apresenta fragmentação da apolipoproteína B e outras alterações decorrentes de uma oxidação excessiva, observações que originaram o termo LDL minimamente modificada (BERLINER *et al*, 1990).

Considerando as discrepâncias nas suas características físico-químicas e origem, a modificação da LDL(-), embora mínima, desempenha uma variedade de atividades biológicas, incluindo citotoxicidade e recrutamento de leucócitos, reforçando a sua relação com a aterogênese (SÁNCHEZ-QUESADA; BENÍTEZ; ORDÓÑEZ-LLANOS 2004). Chen *et al* (2003) identificaram que a fração eletronegativa da LDL de pacientes com hipercolesterolemia familiar (denominada FH-L5 moderadamente oxidada), induzia apoptose de células endoteliais vasculares pela inibição da transcrição do fator de crescimento de fibroblasto 2 (FGF-2) e ainda diminuição da síntese de DNA, prejudicando a angiogênese e reendotelização pós-injúria.

A LDL(-) de pacientes com hipercolesterolemia induziu a liberação das citocinas IL-8 e MCP-1 pelas células endoteliais e células musculares lisas, contribuindo para o recrutamento de leucócitos e monócitos durante os eventos iniciais da aterogênese (CUSHING *et al*, 1990; de CASTELLARNAU *et al*, 2000; SÁNCHEZ-QUESADA *et al*, 2003). Segundo Berliner *et al* (1990), Sevanian *et al* (1997), Itabe *et al*, (2003) o componente responsável pelos efeitos pró-aterogênicos nas células endoteliais foi encontrado na fase lipídica, sugerindo que os lipídios polares, ácidos graxos não esterificados e

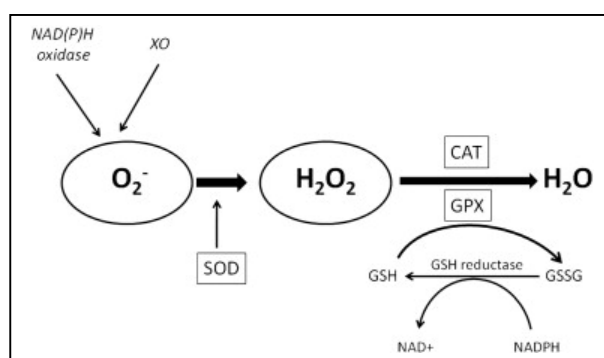
lisofosfatidilcolina são responsáveis pela atividade aterogênica desta partícula. No entanto, Harkewicz *et al* (2008) identificaram que os hidroperóxidos dos ésteres colesterol são componentes ativos da LDL(-) importantes pela sua atividade biológica nos macrófagos das lesões ateroscleróticas. Estudos recentes demonstram que a LDL(-) induz a geração de espécies reativas de oxigênio em macrófagos via ativação sequencial dos receptores TLR4, resultando no início de macropinocitose, o que influencia na captação por macrófagos de pequenas moléculas presentes na fase fluida, incluindo LDLn e LDLox (BAE *et al*, 2009; CHOI *et al*, 2009).

A determinação da LDL (-) pode ser realizada por cromatografia líquida (*High Performance/Pressure Liquide Chromatography* - HPLC) de troca aniônica (CAZZOLATO; AVOGARO; BITOLO-BON, 1991) ou ELISA (*Enzyme Linked Immunosorbent Assay*) (FAULIN *et al*, 2008). Os anticorpos monoclonais (MAb) são poderosas ferramentas na identificação de estruturas específicas na heterogeneidade de partículas de LDL modificada e têm sido utilizados para a investigação da LDLox (ITABE *et al*, 1994, HOLVOET *et al*, 1995, DAMASCENO *et al*, 2006). Os imunoenaios são reprodutíveis, de execução fácil e rápida, podendo ser automatizados, o que facilita a sua utilização para a análise de grande número de amostras, apesar da diversidade dos anticorpos monoclonais e dos tipos de ensaios utilizados tornarem difícil a comparação dos resultados entre os diferentes métodos (ABDALLA; SENA, 2008). Sendo assim, estudos clínicos e experimentais realizados para avaliar as concentrações de LDL(-) e seus anticorpos em diferentes grupos sugerem que esta partícula pode ser considerada um indicador do estágio inicial da oxidação da LDL e sua avaliação representa uma ferramenta útil para acompanhar a progressão da aterosclerose (OLIVEIRA *et al*, 2006).

Na perspectiva da hipótese da modificação oxidativa, a proteção da LDL pelos antioxidantes merece destaque. Estas substâncias, além de protegerem a LDL, precisam evitar que a vasculatura sofra a ação de espécies reativas de oxigênio e nitrogênio, dentro e fora das células. Os antioxidantes enzimáticos, principalmente, a SOD (Cu-ZnSOD, MnSOD e SOD extracelular), catalase (CAT), GPx, glutathione redutase (GSR) e transferases, tiol-dissulfido oxidoreductase e peroxiredoxinas estão presentes nas células da parede arterial (STOCKER; KEANEY, 2004).

A inativação das espécies reativas de oxigênio produzidas, por exemplo, na vasculatura pelas enzimas NADPH oxidase e XO, é realizada, principalmente, pela atividade das enzimas SOD, CAT e o sistema glutathione, que é formado pelos produtos finais glutathione reduzida (GSH) e oxidada (GSSG) e diferentes enzimas que controlam as suas concentrações

como a glutathiona peroxidase (GPx), proteína dependente de selênio para a sua síntese, GSH e glutathiona sintetase. A SOD, uma enzima que contém zinco na sua estrutura, atua rapidamente sobre o radical superóxido ( $O_2^-$ ), convertendo-o a  $H_2O_2$ , que, por sua vez, sofre a ação da CAT e GPx, reduzindo-se à água (**Figura 2**) (JOHNSON; GIULIVI, 2005; HIGASHI *et al*, 2009; REAL *et al*, 2010).



Fonte: Real *et al*, 2010.

**Figura 2** – Representação esquemática dos oxidantes e enzimas antioxidantes

A atividade da SOD e GPx associada ao perfil lipídico em homens com aterosclerose avançada foi menor comparado àqueles saudáveis com e sem dislipidemia (ZAWADZKA-BARTCZAK, 2005). Resultados semelhantes acrescidos de diminuição do zinco plasmático e aumento significativo de homocisteína foram observados por KERKENI *et al* (2008). Os últimos autores formularam a hipótese de que a hiperhomocisteinemia e a baixa atividade das enzimas antioxidantes podem aumentar a extensão da doença aterosclerótica.

Tosukhowong *et al* (2003), estudando pacientes com doença arterial coronariana estável e controles, observaram que a atividade da GPx e as concentrações de GSH foram significativamente menores no grupo com aterosclerose comparado ao controle. No entanto, o *status* antioxidante total do plasma (TAS) e as concentrações de vitamina E não foram diferentes entre os grupos. Os pacientes com doença arterial coronariana apresentaram concentrações séricas mais elevadas de malondialdeído (MDA) e tióis que os controles, reforçando a presença do estresse oxidativo no grupo aterosclerose pelo desequilíbrio dos produtos de danos oxidativos provenientes de lipídios e proteínas e a atividade antioxidante.

Além das enzimas SOD, CAT e GPx atuarem como potentes antioxidantes, outras proteínas, especialmente, a ferritina, transferrina, haptoglobina, hemopexina e ceruloplasmina, podem agir sobre as espécies reativas de oxigênio, por meio da ligação com metais de transição ferro e cobre formando quelatos inativos. Assim como estas proteínas, existem ainda os componentes antioxidantes de baixo peso molecular, como o ácido úrico e a bilirrubina, o

ácido ascórbico, os tocoferóis, os carotenóides, os flavonóides e os polifenóis (STOCKER; KEANEY, 2004). Neste contexto, o uso de antioxidantes dietéticos como agentes preventivos e terapêuticos tem sido amplamente discutido. Estudos experimentais *in vitro* e *in vivo* com modelos animais, demonstram que o consumo de certos alimentos ou extratos contendo vitamina C, vitamina E,  $\beta$ -caroteno e polifenóis, resulta em uma redução do estresse oxidativo e biomarcadores de doenças cardiovasculares, por prevenir a LDL contra oxidação, evitar a disfunção endotelial e regular genes envolvidos no processo aterosclerótico (KALIORA; SCHMIDT, 2006).

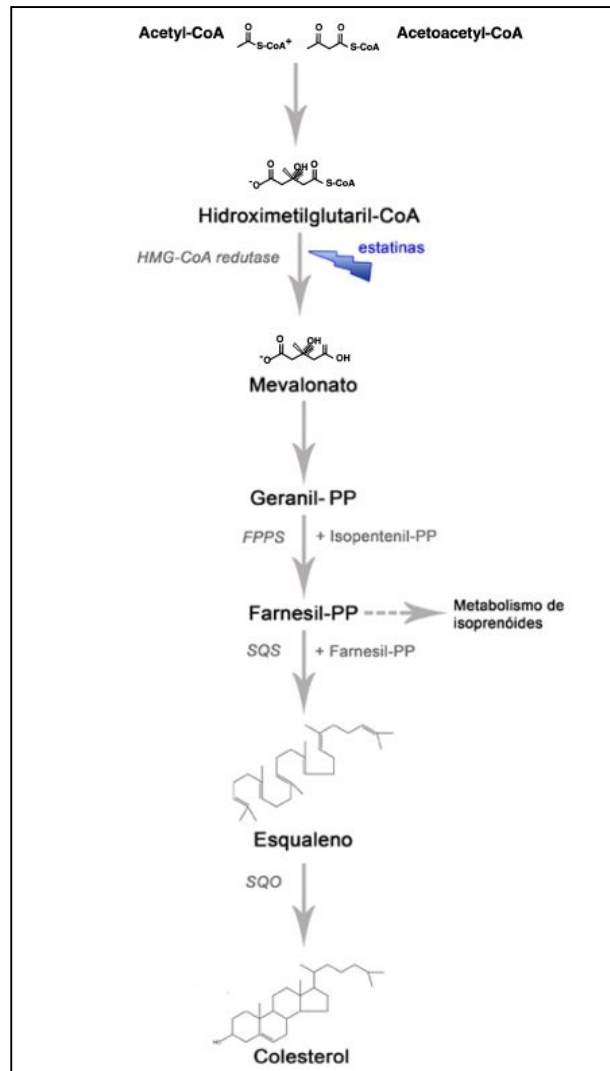
As evidências de que os micronutrientes antioxidantes potencialmente reduzem o risco das doenças cardiovasculares são provenientes de 3 classes de estudos (YOUNG; WOODSIDE, 2001): (1) suplementação antioxidante em modelos animais com aterosclerose demonstram redução da doença (SCHWENKE *et al*, 2002); (2) estudos experimentais com suplementação antioxidante em indivíduos saudáveis ou pacientes com doenças cardiovasculares (PORKKALA-SARATAH *et al*, 1998); (3) estudos epidemiológicos de coorte de larga escala geralmente mostrando associação entre a baixa ingestão de antioxidantes e o risco cardiovascular (OSGANIAN *et al*, 2003).

### 2.1.3. As estatinas e o tratamento da aterosclerose

Considerando que a aterosclerose é uma doença multifatorial, o seu tratamento exige uma abordagem ampla e simultânea em relação a todos os fatores de risco, priorizando-se inicialmente a mudança do estilo de vida, que inclui a terapia nutricional, a atividade física, a abstenção do tabagismo, associadas ou não ao tratamento farmacológico específico (KINLAY, 2005). Tendo em vista os três principais mecanismos envolvidos na reversão da aterosclerose coronariana, as terapias têm como objetivos principais controlar a dislipidemia e a inflamação, além de proteger o endotélio vascular. Portanto, o uso das estatinas ou inibidores da enzima 3-hidroxi-3-metilglutaril coenzima A redutase (HMG-CoA redutase), são indicados, pois apresentam efeitos na função vasomotora do endotélio, inflamação e trombose, por inibirem a biossíntese do colesterol endógeno (GIELEN *et al*, 2009).

O alvo de atuação das estatinas é a via de formação do colesterol endógeno, agindo como potente inibidor da 3-hidroxi-3-metilglutaril coenzima A (HMG-CoA) redutase, impedindo a conversão da HMG-CoA em mevalonato. Ao mesmo tempo, as estatinas previnem a síntese de outros importantes intermediários isoprenóides desta via, tais como o

geranylgeranylpirofosfato (geranyl-PP) e o farnesilpirofosfato (farnesil-PP) (**Figura 3**) (ISTVAN, 2003; ADAM; LAUFS, 2008).



Fonte: Adaptado de Istvan, 2003.

**Figura 3** – Esquema da biossíntese do colesterol. Inibição da HMG CoA redutase

Estes fármacos, além de apresentarem a função de diminuir as concentrações de colesterol sérico, desempenham uma série de ações vasculares protetoras ou “pleiotrópicas” que incluem a melhora da função endotelial, aumento da biodisponibilidade do  $\bullet$ NO, estabilização da placa aterosclerótica, inibição da resposta inflamatória e ações imunomoduladoras, minimizando a incidência de infarto (ATHYROS *et al*, 2009; LUDMAN *et al*, 2009). Em pacientes que se submetem a intervenções como a angioplastia coronariana

percutânea, o uso das estatinas é de fundamental importância por diminuir o risco de infarto do miocárdio (ZHANG *et al*, 2009; LUDMAN *et al*, 2009).

Apesar das evidências sugerirem que os efeitos pleiotrópicos das estatinas promovem redução da morbidade e mortalidade em pacientes com alto risco cardiovascular, Athyros *et al* (2009) ressaltam que ainda há necessidade de confirmações da eficácia das estatinas, por meio de estudos clínicos planejados que incluam metas clinicamente relevantes para definir alvos específicos em relação aos novos biomarcadores para doenças cardiovasculares, além do perfil lipídico.

As estatinas podem ainda reduzir o estresse oxidativo, protegendo a LDL contra a oxidação (NORATA; PIRILLO; CATAPANO, 2003; ROSENSON, 2004). Os mecanismos estão relacionados à menor atividade da NADPH oxidase, enzima responsável pela formação do radical  $O_2^-$ , liberação do  $^{\bullet}NO$ , diminuição da adesão de monócitos ao endotélio, aumento da expressão da CAT e da atividade e expressão da eNOS (ADAM; LAUFS, 2008).

Embora os benefícios do uso das estatinas estejam bem estabelecidos, pouco se sabe sobre os efeitos adversos (KASHANI *et al*, 2006). Segundo Silva *et al* (2006) e Guyton (2006), estes fármacos apresentam baixo risco em relação ao desenvolvimento da rabdomiólise, miopatia, falência hepática e de doença renal aguda e crônica. Estes efeitos podem aumentar significativamente com as interações entre fármacos no decorrer da terapia, dependendo das diferenças individuais de sensibilidade dos pacientes. Uma revisão sistemática que contemplou estudos clínicos randomizados, demonstrou que o uso das estatinas está associado a um pequeno aumento das transaminases, porém maior risco de mialgias, elevação da creatina quinase, rabdomiólise, reforçando a necessidade de mais investigações, em especial, com grupos de idosos, pacientes com co-morbidades graves e usuários de altas doses (KASHANI *et al*, 2006).

Segundo a SBC (2007), existem seis estatinas que são distribuídas e comercializadas no Brasil: lovastatina, fluvastatina, atorvastatina, sinvastatina, pravastatina e rosuvastatina. Os diversos tipos de estatinas diferem em relação às propriedades farmacológicas dos seus componentes, incluindo: (1) afinidade pelo sítio ativo da HMG CoA redutase; (2) taxa de entrada nos tecidos hepáticos e extra-hepáticos; (3) disponibilidade na circulação sistêmica para captação pelos tecidos extra-hepáticos; (4) rotas e modos de transformação metabólicas e eliminação (McTAGGART, 2003)

Dentre estas, a rosuvastatina é o fármaco mais recente aprovado pelas instituições regulatórias em agosto de 2001. A eficácia, segurança e tolerabilidade têm sido avaliadas em longo prazo, por meio de estudos clínicos multicêntricos com doses que variam de 5-80mg em

pacientes com hipercolesterolemia (BALLANTYNE; MILLER; CHITRA, 2004), hipertrigliceridemia (HUNNINGHAKE *et al*, 2004) e hiperlipemia mista (CASLAKE *et al*, 2003). A dose típica de rosuvastatina para o tratamento da hipercolesterolemia e morbidades associadas é de 10-40mg/dia, embora a dose usual recomendada para o início do tratamento seja de 10mg/dia (TIWARI, 2006).

A rosuvastatina apresenta uma série de vantagens farmacológicas, por exibir características únicas de ligação com a HMG-CoA redutase e efeitos inibitórios superiores quando comparado com as outras estatinas, mostrando-se relativamente hidrofílica e seletiva para captação e atividade em células hepáticas. O fato de não ser metabolizada pelo sistema isoenzimático 3A4 do citocromo P 450, minimiza o risco de relevantes interações farmacocinéticas com outros fármacos que utilizam esta via, por exemplo, os antibióticos, antifúngicos, ciclosporina, barbitúricos, carbamazepina, (CHAPMAN; McTAGGART, 2002; WHITE, 2002; HOLDGATE; WARD; McTAGGART, 2003).

Estudos clínicos têm demonstrado os efeitos positivos na redução da LDL e triacilgliceróis, além do aumento da lipoproteína de alta densidade (HDL) em pacientes com hipertrigliceridemia ou dislipidemia mista e *diabetes mellitus* (SCHUSTER, 2003; RUBBA; MAROTTA; GENTILE, 2009). Tiwari (2006) ressaltou que, embora os estudos comprovem a segurança no uso da rosuvastatina para maioria dos pacientes, a incidência de proteinúria tem sido um achado frequente, devido à inibição da reabsorção tubular de albumina. No entanto, a proteinúria associada à rosuvastatina foi observada, especialmente na dosagem de 80mg/dia, mas sem associação com efeitos renais tóxicos, bem como falência renal.

## **2.2. OS MINERAIS ZINCO E SELÊNIO: METABOLISMO, FUNÇÕES E AS RELAÇÕES COM A ATEROSCLEROSE**

### **2.2.1. Zinco**

A essencialidade do zinco no funcionamento do organismo humano justifica o interesse por este mineral tanto na prática médica, como na pesquisa acadêmica de âmbito multidisciplinar. O zinco está presente em todos os órgãos, tecidos e secreções do corpo correspondendo a cerca de 95% do total encontrado no interior das células. O corpo humano



contém cerca de 2-3g de zinco, distribuídos em maiores percentuais no músculo, fígado, rins, ossos e próstata (FRANSSINETTI *et al*, 2006).

Os alimentos constituem as fontes primárias de zinco para os humanos, e somente uma pequena parte é proveniente da água. Os teores de zinco são variáveis, porém, as carnes, peixes, fígado, ovos, mariscos, leites e derivados são considerados boas fontes deste mineral, devido à presença de certos aminoácidos que podem melhorar a solubilidade, dentre eles a histidina, a metionina e a cisteína (FRANSSINETTI *et al*, 2006). Alguns fatores dietéticos, intraluminais e sistêmicos influenciam na captação e no transporte celular de zinco, tais como: forma química do elemento na dieta, interação mineral-mineral, taninos, oxalatos, fitatos, fármacos, catabolismo, hormônios, proteínas da dieta, infecções e estresse (LÖNNERDAL, 2000). As interações biológicas existentes entre os minerais quimicamente similares, como o ferro, cálcio e cobre, constituem-se fatores que podem afetar a absorção destes elementos (KING; KEEN, 1999).

As necessidades diárias de zinco variam em função da idade, estágio de crescimento e extensão das perdas pelo intestino, vesícula biliar, pâncreas, rins e pele. Segundo o *Food and Nutrition Board (FNB) – Institute of Medicine (IOM)* (2001), a ingestão dietética recomendada (*Recommended Dietary Allowance/RDA*) para os homens e mulheres saudáveis com idade acima de 19 anos é de 11mg e 8mg, respectivamente. O limite superior tolerável de ingestão (*Tolerable Upper Intake Level/UL*) foi definido como sendo 40mg, no sentido de evitar a toxicidade.

O zinco é absorvido, preferencialmente, no jejuno e esse transporte intestinal é homeostaticamente regulado pela absorção e secreção. Quando a ingestão dietética de zinco encontra-se diminuída, o mecanismo de secreção deste mineral da mucosa para o lúmen é diminuído, enquanto a absorção através da mucosa para o compartimento vascular aumenta, contribuindo para o incremento da absorção do mineral. Ajustes na excreção renal também podem ocorrer com ingestões extremamente altas ou baixas. A redistribuição tecidual e celular deste mineral pode contribuir de certa forma, para a manutenção da homeostase de zinco no organismo (KING; SHAMES; WOODHOUSE, 2000).

Alterações no estado nutricional do zinco podem ser resultado não somente de uma ingestão dietética insuficiente, mas também em decorrência de prejuízos na atividade de proteínas reguladoras do seu metabolismo especializadas na captação, no efluxo e na compartimentalização do zinco, responsáveis pela manutenção das concentrações intracelulares e por sua adequada distribuição nos tecidos (DEVIRGILIIS *et al*, 2007). Neste aspecto, o zinco apresenta mecanismos de regulação que envolvem a participação da

membrana plasmática e de compartimentos intracelulares. No estado de hipozincemia os estoques de zinco são mobilizados para manterem as necessidades das vias metabólicas desses compartimentos, embora, diante do excesso, aconteça um sequestro dos íons por estruturas de difícil mobilização, caracterizado como mecanismo protetor (SEKLER *et al*, 2007).

Dentro deste contexto, as proteínas transportadoras de zinco fazem parte de duas famílias de genes, a *Solute Carrier Family* (SLC30A), sendo mais comumente referidas como ZnT ou CDF (*Cation Diffusion Facilitator*); e a *Solute Carrier Family* (SLC39A) ou Zrt-, Irt-like protein (ZIP) (LIUZZI; COUSINS, 2004). Os transportadores da família ZIP são responsáveis pelo influxo de zinco do meio extracelular para o citosol ou do lúmen para compartimentos intracelulares. Enquanto que, os transportadores ZnT, mobilizam o zinco na direção oposta, ou seja, facilita o efluxo de zinco do citosol para o meio extracelular e o transporte mineral citosólico entre as organelas (KAMBE *et al*, 2004; LICHTEN; COUSINS, 2009). Participa também da regulação do zinco um polipeptídeo transmembrana transportador de íons, o DCT1 (*divalent cation transport -1*) (TAPIERO; TEW, 2003).

No meio intracelular o zinco encontra-se ligado a uma proteína envolvida na sua homeostase, a metalotioneína, que atua em conjunto com outros transportadores de zinco, na regulação da absorção do mineral. A síntese hepática e intestinal da metalotioneína é estimulada pela injeção de zinco intraperitoneal e suplementação dietética, por inflamação e resposta de fase aguda. Esta proteína apresenta baixo peso molecular e alto conteúdo de cisteína desempenhando um importante papel na desintoxicação de metais pesados, na homeostase do cobre, na remoção de radicais livres e na regulação intracelular da concentração de zinco (KREBS, 2000). Estímulos como o estresse oxidativo e a inflamação parecem induzir a expressão de metalotioneína (ANDREWS, 2000). Em idosos e na aterosclerose, o processo inflamatório persistente mediado por citocinas pró-inflamatórias estão associados com o aumento da expressão desta proteína (MOCHEGANI *et al*, 2002; GIACCONI *et al*, 2007).

A metalotioneína se liga a 7 íons zinco por meio das sulfidrilas de 20 cisteínas para formar 2 aglomerados de zinco/tiolato. A liberação do zinco deste complexo é dependente das demandas do organismo e influenciada em parte pelo selênio (MARET, 2003). Sugere-se que o mecanismo da reação é procedente da ativação de selenilsulfeto (R-Se-S-G), que por sua vez, oxida o aglomerado zinco/tiolato para formar R-Se-S-metalotioneína, liberando o zinco durante a oxidação. Os componentes derivados do selênio, como a GPx, também catalisam a liberação do zinco por meio de reações de peroxidação e modificação do tiol/dissulfeto. Mediante essas interações entre os dois minerais, autores apontam para os benefícios do

adequado estado nutricional do zinco e do selênio para manutenção da saúde e longevidade (MOCHEGANI *et al*, 2008<sup>a</sup>).

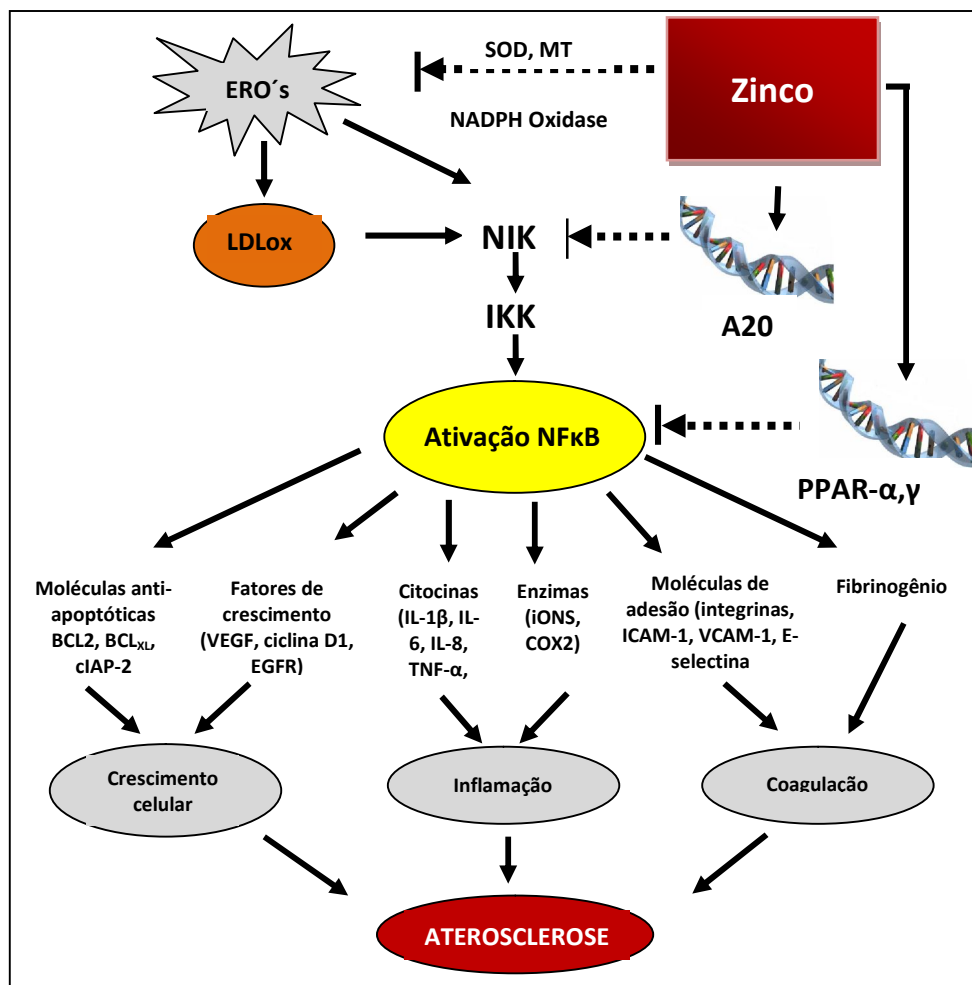
As funções bioquímicas do zinco podem ser refletidas pelo seu papel catalítico, estrutural e regulatório em muitas proteínas (“*zinc fingers protein*”), enzimas, hormônios e receptores de hormônios. Este mineral está envolvido na atividade de enzimas que controlam processos de síntese de DNA, crescimento e desenvolvimento normais, reprodução, desenvolvimento fetal, estabilidade da estrutura molecular dos constituintes subcelulares e de membrana, formação dos ossos e cicatrização (McCALL; HUANG; FIERKE, 2000; STEFANIDOU *et al*, 2006). O zinco ainda regula processos de transcrição e tradução de polinucleotídeos, e, conseqüentemente, a expressão gênica (MOCHEGANI *et al*, 2000; WOOD, 2000).

No sistema imunológico, o zinco é essencial tanto na imunidade humoral quanto na mediada por células (TUERK; FAZEL, 2009) por influenciar processos de fagocitose dos macrófagos e neutrófilos, interferir na atividade das células mediadas por células “*natural killer*” (NK), proliferação das células T e B, apresentação de antígenos pelo complexo de histocompatibilidade (MCH) classe II, bem como na produção de citocinas IL-2, IL-12, interferon- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) e TNF, pela redução na atividade de linfócitos T *helper* 1 (T<sub>H</sub>1) (SALGUEIRO *et al*, 2000; FERENICK; EBRINGER, 2003; PRASAD, 2009). O zinco também é importante na maturação das células T por meio da timulina que, por sua vez, induz a expressão de marcadores em células T, promove a citotoxicidade de linfócitos T e participa da produção de IL-2 (MURAKAMI; HIRANO, 2008).

O envolvimento do zinco na ativação do NF- $\kappa$ B é outro ponto que merece destaque, tendo em vista a importância deste fator de transcrição na regulação da expressão de vários genes, especialmente citocinas, quimiocinas e vias de sinalização relacionadas à apoptose, resposta imune e inflamatória. O efeito do zinco na translocação NF- $\kappa$ B é atribuído à supressão da fosforilação e degradação de proteínas inibitórias que normalmente sequestram este fator no citoplasma, contribuindo assim para a fisiopatologia das doenças inflamatórias, tais como a aterosclerose (HENNIG *et al* 1999<sup>b</sup>, BEATTIE; KWUN, 2004; VASTO *et al*, 2006).

Estudos *in vivo* e *in vitro* indicam que a deficiência de zinco aumenta o estresse oxidativo celular, intensificando eventos pró-inflamatórios e prejudicando os mecanismos anti-inflamatórios na vasculatura, por meio da ativação do NF- $\kappa$ B e inibição do receptor ativado por proliferador de peroxisomo (PPAR), um fator de transcrição que regula a expressão de genes relacionados ao metabolismo lipídico e da glicose, resposta inflamatória e

diferenciação celular (**Figura 4**). Os autores sugerem que a adequada ingestão do mineral pode ser importante para prevenção das doenças cardiovasculares como a aterosclerose (SHEN *et al*, 2008). Ainda dentro do contexto da inflamação, Mocchegiani *et al* (2002) e Giacconi *et al*, (2004) enfatizam a relação do aumento da IL-6, observada principalmente em idosos com aterosclerose, e o aumento da expressão de metalotioneína, ocasionando uma diminuição de zinco disponível, potencializando o processo aterosclerótico.



Fonte: Adaptado de Prasad, 2008

**Figura 4** - O zinco como agente antiinflamatório e antioxidante

O zinco atua como antioxidante, por meio de mecanismos distintos: (1) inibição da atividade da NADPH oxidase, com consequente diminuição da geração de  $O_2^-$ ; (2) competição com o ferro e o cobre para ligação na membrana das células, diminuindo a produção de  $^{\bullet}OH$ ; (3) dismutação do  $O_2^-$  em  $H_2O_2$ , catalizada pela SOD, enzima que apresenta o zinco como componente estrutural; (4) indução da produção de metalotioneína, que é rica

em cisteína, portanto, um excelente sequestrador de  $\bullet\text{OH}$  (**Figura 4**) (PRASAD *et al*, 2004; FRANSSINETTI *et al*, 2006; PRASAD, 2008).

As concentrações de zinco e da metalotioneína, particularmente, podem aumentar os processos relacionados ao estresse oxidativo nas células endoteliais, e desde que esta alteração no zinco plasmático disponível venha afetar a condição do mineral no endotélio, esta deficiência pode ser um fator de risco para a formação da placa aterosclerótica. Considerando as funções do zinco como antioxidante, estabilizador das membranas celulares e inibidor de processos apoptóticos, sugere-se que este elemento é um nutriente antiaterogênico, importante para a manutenção da integridade endotelial (HENNIG *et al*, 1999<sup>a</sup>). Além disso, o zinco também pode influenciar em vias de sinalização do  $\bullet\text{NO}$ , pelo envolvimento na ativação da NO sintase (BEATTIE; KWUN, 2004). Ripa e Ripa (1994) argumentam que a ação antioxidante do zinco previne a oxidação da LDL e, por conseguinte, inibe um dos principais mecanismos da aterogênese.

### 2.2.2. Selênio

Um interesse crescente tem sido dado para o entendimento do papel biológico do selênio no organismo, em particular, sob os aspectos fisiológicos na saúde, prevenção de doenças e o seu uso como agente terapêutico. Este mineral pode estar presente em formas inorgânicas, tais como selenito ( $\text{SeO}(\text{OH})_2$ ) e selenato ( $\text{SeO}_2(\text{OH})_2$ ), provenientes de suplementos, bem como em compostos orgânicos como os seleno-aminoácidos, a selenocisteína e a selenometionina (SUZUKI, 2005; PAPP *et al*, 2007).

A alimentação constitui-se na principal via de obtenção de selênio pelo organismo. A quantidade deste mineral nos alimentos, a maior parte sob a forma de selenometionina e selenocisteína, é dependente do teor no solo, portanto, sujeito a variações influenciadas pela localização geográfica, mudanças sazonais e pH (NAVARRO-ALARCON; CABRERA-VIQUE, 2008). Dentre as fontes alimentares, a castanha do Brasil (*Bertholletia excelsa*) merece destaque pelas altas concentrações e biodisponibilidade de selênio (DUMONT; VANHAECKE; CORNELIS, 2006). Os alimentos protéicos como os peixes, o fígado, frango, ovos e a carne bovina também são considerados boas fontes, já os laticínios contribuem menos para o aporte, a depender do seu consumo (NAVARRO-ALARCON; CABRERA-VIQUE, 2008). O teor de selênio dos grãos e das sementes varia em função do solo em que

foram cultivados. Frutas e hortaliças, em geral, apresentam baixos teores de selênio e representam menos de 8% no aporte do mineral na dieta (COMBS Jr, 2001).

As recomendações de selênio propostas pelo FNB-IOM (2000<sup>a</sup>) foram baseadas na quantidade necessária para maximizar a atividade da enzima GPx. Neste caso, a RDA para o selênio é de 55µg/dia, para homens e mulheres adultos saudáveis com idade acima de 19 anos. O valor do limite máximo de ingestão foi fixado em 400 µg/dia, devido aos riscos de toxicidade.

Aproximadamente 80% do selênio da dieta é absorvido, embora este percentual dependa da forma química (geralmente os compostos orgânicos são melhor absorvidos e menos tóxicos), teor de proteínas, gorduras da dieta, *status* de selênio do indivíduo, além da presença de metais pesados (THOMSON, 2004). Uma das interações mais relatadas é entre o selênio e o mercúrio (CABAÑERO; MADRID; CAMARA, 2007). O total de selênio do organismo varia entre 10 a 20mg, estando localizado, principalmente, no músculo esquelético, rins e fígado. As maiores demandas de selênio se referem ao sistema imune, eritrócitos e plaquetas (BURK; LEVANDER, 1999).

A selenometionina e a selenocisteína (SeC) são as duas principais formas por meio das quais o selênio é absorvido pelo organismo. A selenometionina parece não ser especificamente reconhecida como um composto de selênio, portanto, é metabolizada no *pool* da metionina. A partir daí, a selenometionina é metabolizada a selenocisteína por mecanismo de transulfuração. Esta, por sua vez, é degradada pela enzima β-liase em selenídio, que pode ser metilado e excretado, ou, convertido em selenofosfato e aproveitado na via das selenoproteínas (BURK; LEVANDER, 1999; SUZUKI, 2005). As espécies inorgânicas selenito e selenato são, simplesmente, reduzidas a selenídio pela ação da glutathione. Na corrente sanguínea os íons selenito são rapidamente captados pelos eritrócitos e não são excretados na urina, enquanto que, o selenato segue a mesma via de ligação nos eritrócitos, porém, parte é retida pelos hepatócitos e o restante é excretado diretamente na urina (SUZUKI, 2005). Em condições fisiológicas, a homeostase do selênio não é regulada pela absorção, mas preferencialmente, pela excreção (GAMMELGAARD *et al*, 2008).

Dentre as funções do selênio destaca-se a defesa antioxidante, modulação do sistema imune, e conseqüentemente, proteção contra as doenças cardiovasculares e alguns tipos de câncer (RAYMAN, 2009). Mais recentemente, descobriu-se o envolvimento do selênio como mediador da ação da insulina (OBEID *et al*, 2008), síntese de metionina a partir da homocisteína (GONZÁLEZ *et al*, 2004), estabilização do metabolismo do ácido araquidônico

(SORDILLO *et al*, 2008), bem como, conversão do hormônio tireoidiano tiroxina (T4) na sua forma ativa triiodotironina (T3) (BECKETT; ARTHUR, 2005).

Os papéis biológicos que são atribuídos ao selênio devem-se fundamentalmente ao fato deste mineral ser incorporado a SeC, um aminoácido que compõe uma família de proteínas denominada selenoproteínas, cuja formação acontece por mecanismo cotranslacional a partir da serina (BRENNEISEN; STEINBRENNER; SIES, 2005; PAPP *et al*, 2007; LU e HOLMGREN, 2009). As proteínas dependentes de selênio que têm as suas funções biológicas mais estudadas e descritas são as da família da GPx, a tioredoxina redutase, a iodotironina deiodinase, a selenofosfatase sintetase. O restante das selenoproteínas mais recentemente descobertas são nominadas em ordem alfabética atribuindo-se letras: SelH, SelI, SelK, SelM, SelN, SelO, SelP, SelR, SelS, SelT, SelV e SelW. A maioria das selenoproteínas ainda não tem a sua funcionalidade caracterizada (MOGHADASZADEH; BEGGS, 2006; PAPP *et al*, 2010).

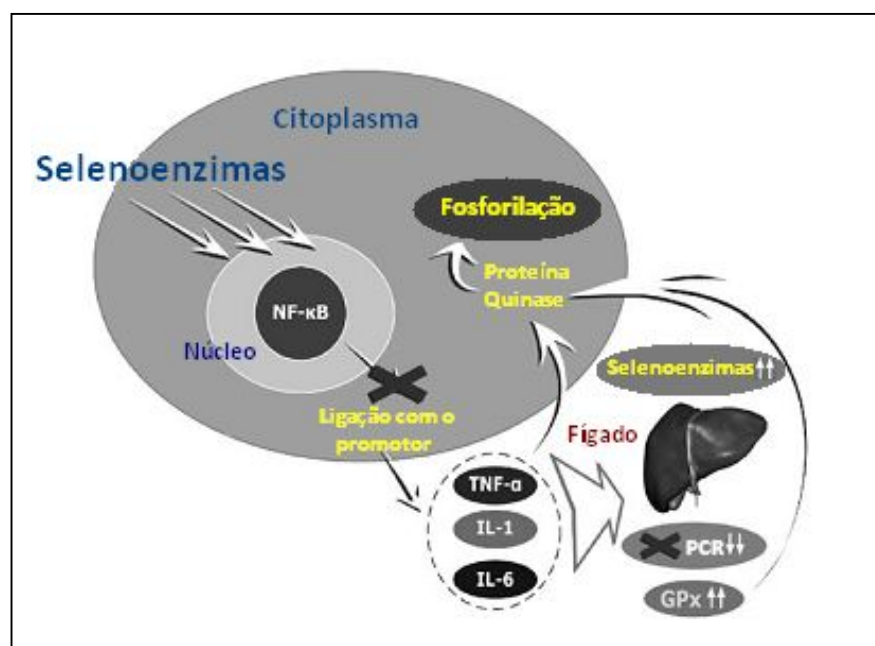
Diversos estudos relacionam a deficiência de selênio e o risco no desenvolvimento das doenças cardiovasculares, especialmente a aterosclerose (ARNAUD *et al*, 2007; FLORES-MATEO *et al*, 2006; BLEYS *et al*, 2009). Apesar dos dados serem controversos, o selênio tem sido muito evidenciado na funcionalidade da manutenção da integridade endotelial e como uma substância anti-aterogênica, por inibir eventos relacionados ao estresse oxidativo e inflamação (NAVARRO-ALARCÓN; LÓPEZ-MARTÍNEZ, 2000). Este mineral também pode atuar na diminuição da resposta do NFkB ao mecanismo de pró-inflamação da célula endotelial, limitando o aparecimento da aterosclerose (ZHANG *et al*, 2002).

Algumas das selenoenzimas e selenoproteínas são reconhecidas por desempenhar um importante papel antioxidante. A GPx (GPx1, GPx2, GPx3, GPx4, GPx5, GPx6) protege as células contra os danos causados pelas espécies reativas de oxigênio e nitrogênio. A tioredoxina redutase cataliza a redução da tioredoxina dependente de NADPH, regulando sua atividade metabólica. Em adição a SelP, além de transportar cerca de 60% do selênio do plasma, participa da defesa antioxidante prevenindo também o ataque de espécies reativas de oxigênio e nitrogênio (BROWN; ARTHUR, 2001).

Dentro desta perspectiva, hipóteses são formuladas sobre o efeito do selênio na redução da formação da LDLox (TINGGI, 2008). Traulsen *et al* (2004) observaram que a SelP pode atuar *in vivo* como um fator protetor, inibindo a oxidação da LDL por espécies reativas de oxigênio. O envolvimento da tioredoxina redutase na aterosclerose deve-se ao fato desta enzima reduzir o estresse oxidativo e aumentar a disponibilidade de •NO (ZHANG *et al*, 2007). Quanto à GPx, a deficiência na atividade desta enzima está relacionada a aterosclerose

em estudos experimentais e a um prognóstico negativo em pacientes com doença arterial coronariana, tendo em vista que a redução na expressão desta enzima refletiu em um aumento na oxidação da LDL (BLENKENBERG *et al*, 2003; BRIGELIUS-FLOHÉ; BANNING; SCHURR, 2003).

Apesar dos mecanismos ainda não estarem bem elucidados, já é bem estabelecido o envolvimento do selênio dietético na resposta imune. O selênio pode influenciar nas concentrações de linfócitos T, prejudicando a proliferação e a responsividade destas células (BROWN; ARTHUR, 2001). Ferencik e Ebringer (2003) e Duntas (2009) colocam que as concentrações de selênio em níveis ótimos podem modular a produção de citocinas (aumentar IL-2 e reduzir TNF e IL-8), reduzir a ativação do NF- $\kappa$ B via GPx e a produção de citocinas pró-inflamatórias, atenuando a inflamação (**Figura 5**). Dentro desta perspectiva, Duntas (2009) propõe ainda que o selênio possa mediar à adesão de monócitos às células endoteliais e a migração para o subendotélio, via L-selectina.



Fonte: Adaptado de Duntas, 2009.

**Figura 5** - Regulação da ativação do NF- $\kappa$ B pelas selenoenzimas

Um mecanismo adicional proposto para o envolvimento do selênio na aterosclerose refere-se ao efeito no metabolismo do ácido araquidônico. A deficiência do selênio pode levar ao aumento da produção de tromboxano A<sub>2</sub> pró-agregante plaquetário, enquanto que a biossíntese de prostaciclina anti-agregatória é prejudicada, promovendo um microambiente trombolítico (LUBOS *et al* 2010).



Dhingra e Bansal (2006<sup>a,b</sup>), a partir de estudos com animais, demonstraram a relação do selênio com a hipercolesterolemia, especialmente com o aumento da LDL. A deficiência de selênio favoreceu a diminuição da expressão da enzima iodotironina deiodinase, responsável pela conversão de T4 em T3. O hormônio tireiodiano T3, por sua vez, tem influência na síntese de receptores de LDL em nível hepático. A diminuição dos níveis circulantes de T3 e, conseqüentemente, de receptores de LDL, favorece um perfil aterogênico, caracterizado pelo aumento da LDL plasmática.

### 2.3 ESTUDOS SOBRE *STATUS* DE ZINCO E SELÊNIO E SUPLEMENTAÇÃO EM PACIENTES COM ATEROSCLEROSE

Apesar das relações entre o zinco e selênio na prevenção e tratamento da aterosclerose, tem-se observado que os pacientes portadores de doenças crônicas apresentam comprometimento no estado nutricional de minerais atribuído, na maioria das vezes, às alterações metabólicas peculiares das doenças que provocam aumento das necessidades nutricionais, nem sempre supridas pela ingestão alimentar, ou ainda, diminuição das concentrações séricas induzidas pelo uso de medicamentos (GHAYOUR-MORBARHAN *et al*, 2005).

O estado nutricional com relação ao zinco pode ser avaliado por meio do consumo alimentar, concentração de zinco plasmático, eritrocitário, urinário, e ainda pelos indicadores funcionais, como análise da atividade de metaloenzimas, tais como: anidrase carbônica, fosfatase alcalina e carboxipeptidase (GIBSON, 1990). O zinco plasmático é a fonte primária deste mineral para todas as células e está ligado, principalmente, à albumina, à  $\alpha$ 2-macroglobulina e os aminoácidos, especialmente à histidina e cisteína, apresentando uma dinâmica rápida, que o mantém sob controle homeostático. Fatores como estresse, infecção, catabolismo, hormônios e ingestão alimentar estão envolvidos nas flutuações de zinco neste compartimento (HAMBIDGE, 2003; FAIRWEATHER-TAIT; HARVEY; FORD, 2008). Já o zinco eritrocitário é um índice que reflete alterações a médio e a longo prazo nos estoques do mineral no organismo, devido à meia-vida longa (120 dias) dos eritrócitos (SANTOS; SARDINHA;COLLI, 2005<sup>a</sup>).

No entanto, as medidas de zinco no plasma e em eritrócitos representam marcadores com sensibilidade limitada como preditores do *status* do zinco, em função da adaptação

homeostática que ocorre diante da baixa ingestão dietética (SULLIVAN; BURNETT; COUSINS, 1998; HAMBIDGE, 2003). Uma revisão sistemática sobre biomarcadores do estado nutricional de zinco identificou que a avaliação deste mineral no plasma é um importante parâmetro e pode ser utilizado para medir as concentrações de zinco em indivíduos com alta ou baixa ingestão dietética (LOWE; FEKETE; DECSI, 2009).

Em relação ao selênio, a avaliação do *status* deste mineral pode ser acompanhada por uma variedade de métodos, incluindo as medidas de selenoproteínas específicas. As estimativas da ingestão dietética, determinações das concentrações de selênio no plasma, eritrócitos, tecidos, urina e a determinação da atividade da GPx em diferentes componentes, têm sido as técnicas mais comumente utilizadas (HOLBEN; SMITH, 1999).

Ashton *et al* (2009) identificaram que as medidas do selênio no plasma, eritrócitos, sangue total, SelP, plaquetas e a atividade da GPx são mais responsivos às alterações de selênio da dieta. As evidências são insuficientes para se determinar o potencial de biomarcadores como o selênio urinário, razão T3:T4 e T4 plasmática, homocisteína total, selênio no cabelo e nas unhas, na avaliação do *status* de selênio do organismo.

O *status* de elementos traços em pacientes com aterosclerose são objetivos de estudos clínicos. Lubos *et al* (2010) observaram que as baixas concentrações de selênio plasmático em pacientes com síndromes coronarianas agudas ou com angina estável, relacionaram-se ao aumento das proteínas de fase aguda, como a PCR, fenômeno atribuído à ativação do NF- $\kappa$ B pela deficiência de selênio. Contraditoriamente, Parizadeh *et al* (2009) não encontram diminuição das concentrações de selênio plasmático entre os pacientes com e sem doença arterial coronariana, embora a GPx sérica fosse menor no grupo aterosclerose. Os autores propõem que a angiografia provavelmente não é um método sensível para diagnosticar a aterosclerose e que os pacientes com angiograma negativo poderiam ser portadores da doença.

Alissa *et al* (2006) estudaram a relação entre as concentrações de micronutrientes (cobre, zinco e selênio) e a aterosclerose em homens saudáveis com doenças cardiovasculares. Os resultados demonstraram menor excreção de cobre e zinco nos pacientes, bem como menores níveis plasmáticos de selênio. O zinco plasmático, a razão cobre/zinco e as concentrações sérica e urinária de selênio foram correlacionadas com a aterosclerose. Do mesmo modo, Ghayour-Mobarhan *et al* (2008) identificaram diferenças entre o *status* de cobre e zinco no soro, ingestão dietética e marcadores de inflamação em pacientes com dislipidemia e aterosclerose, comparados com o grupo controle.

Em pacientes com falência cardíaca, encontraram-se níveis séricos diminuídos de zinco e selênio, porém altas concentrações de cobre sérico, ressaltando a relação do *status*

destes minerais e a ocorrência de cardiomiopatia dilatada idiopática e cardiomiopatia isquêmica (KOSAR *et al*, 2006). Em outra investigação, pacientes com síndromes coronarianas agudas, apresentaram aumento sérico de cobre e ferro, e concentrações séricas diminuídas de zinco e selênio, indicando que o desequilíbrio entre estes micronutrientes está relacionado ao dano miocárdico, podendo participar da patogênese da doença cardíaca isquêmica. As fortes correlações encontradas entre os marcadores cardíacos, PCR e atividade da GPx, sugeriram que estes marcadores são importantes para o prognóstico das síndromes coronarianas agudas (ALTEKIN *et al*, 2005).

Considerando a importância de explorar as interações entre fármacos e nutrientes, alguns estudos mostram a relação entre o ferro, cobre, zinco, selênio e o uso das estatinas. Leonhardt *et al* (1997) concluíram que o tratamento de pacientes hipercolesterolêmicos com fluvastatina durante 8 semanas, resultou em redução de colesterol total, de triglicerídeos, e de zinco plasmático, ressaltando a importância deste último, tendo em vista que o zinco está diretamente relacionado com a atividade da enzima cobre-zincoSOD.

Corroborando com estes resultados, o tratamento durante 4 meses com simvastatina e atorvastatina em pacientes dislipidêmicos (estudo caso-controle), demonstraram diminuição significativa do colesterol total, LDL, zinco sérico, cobre, ceruloplasmina e proteína C reativa; sem alteração do selênio sérico, da razão cobre/ceruloplasmina e da GPx no grupo estatina. Observou-se que os níveis desses minerais poderiam ser afetados significativamente pelo tratamento com doses de estatinas rotineiramente utilizadas para o tratamento clínico (GHAYOUR-MOBARHAN *et al*, 2005). No entanto, Yilmaz *et al* (2004) demonstraram que o tratamento com fluvastatina (12 semanas) resultou em aumento de zinco e cobre eritrocitário, enquanto que as concentrações de ferro foram diminuídas. Mais recentemente foi identificado um declínio na concentração plasmática de selênio em pacientes dislipidêmicos sob tratamento com estatinas durante 9 anos por mecanismos ainda não esclarecidos (ARNAUD *et al*, 2009).

Devido à grande prevalência da deficiência de minerais e o impacto na saúde humana, estudos envolvendo suplementação de minerais têm sido conduzidos, no sentido de investigar os efeitos nutricionais das intervenções em diferentes situações. No entanto, os estudos são de difícil comparação devido a vários fatores: (1) variação no *status* dos minerais nos participantes do estudo – aqueles com deficiência respondem melhor; (2) o desenho do estudo – alguns são controlados por placebo, outros com grupo controle não tratado ou estudos de casos simples; (3) fórmula química utilizada; (4) interações dos minerais e outros nutrientes –

suplementação de zinco em altos teores pode comprometer a biodisponibilidade do cobre (HAASE; OVERBECK; RINK, 2008).

Tendo em vista a importância da manutenção do *status* adequado de zinco e selênio, além de todas as funções importantes destes elementos em pacientes com aterosclerose, a suplementação destes minerais isoladamente ou combinados são objetivos de avaliação em ensaios clínicos e experimentais (MOCHEGANI *et al*, 2008<sup>a</sup>).

Os estudos randomizados e controlados por placebo, que avaliaram a suplementação de zinco isolada sobre a peroxidação e perfil lipídico, demonstram que as concentrações de LDLox, colesterol total e triacilgliceróis não foram afetadas pela suplementação com 150mg de zinco/dia. No entanto, observou-se uma redução da HDL, a partir da dosagem de 50mg zinco/dia em homens aparentemente saudáveis (HUGES; SAMMAN, 2006).

Embora a literatura indique resultados inconsistentes para a associação do zinco e aterosclerose em estágios avançados pelo fato do mineral possivelmente ter mais importância nas fases iniciais da doença, pesquisadores comprovaram regressão da lesão aterosclerótica em animais suplementados com zinco (REN *et al*, 2006; JENNER *et al*, 2007). Os dados suportam o conceito do efeito antiaterogênico pela diminuição das concentrações de ferro, levando possivelmente à inibição das reações de radicais livres catalizadas por este metal. Ainda em modelos animais, a suplementação de zinco diminuiu as concentrações de colesterol e triacilgliceróis nas frações de VLDL e HDL (REITERER *et al*, 2005).

Em pacientes com aterosclerose e angina *pectoris*, os benefícios da suplementação com zinco em altas doses (300mg/dia) são discutidos como estratégia terapêutica e profilática no tratamento da aterosclerose, com consequente melhora dos sintomas de angina. Os autores explicam que o aumento da LDL plasmática observada após o tratamento pode ser decorrente da liberação da LDL do espaço subintimal no sistema cardiovascular, possivelmente, pela inibição da ICAM, sugerindo que este achado ao invés de maléfico, pode trazer benefícios para o paciente (EBY; HALCOMB, 2006).

Levando em conta os processos inflamatórios associados à aterogênese, a suplementação de zinco pode reduzir a produção de citocinas pró-inflamatórias como TNF $\alpha$ , IL-1 e IL-8, sugerindo que este elemento pode ser utilizado como recurso terapêutico em diversas doenças causadas por estresse oxidativo, como por exemplo, a aterosclerose (BAO *et al*, 2003). Mocchegiani *et al* (2006) apontam que a suplementação de zinco em doses fisiológicas foi importante para reestabelecer a atividade endócrina do timo e a resposta imune inata via células NK e aumentar a sobrevivência em idosos. A suplementação de zinco em adultos saudáveis foi responsável pelo aumento de zinco circulante nos indivíduos deficientes e

marginais e pela modulação das concentrações de IL-6, MCP-1 e a atividade das células NK (MARIANI *et al*, 2008<sup>a</sup>).

No entanto, Giacconi *et al* (2008) sustentam a hipótese de que o perfil genético individual pode influenciar na resposta da suplementação e, por conseguinte, no seu estado de saúde. De fato, o estudo *ZINCAGE Project* demonstrou que a resposta à suplementação de zinco não foi favorável para todos os idosos e um dos fatores determinantes foi o polimorfismo apresentado no gene da IL-6 (MOCCHEGIANI *et al*, 2008<sup>b</sup>).

Em se tratando dos estudos sobre o efeito da suplementação de selênio isoladamente na aterosclerose, autores afirmam que este pode ser um método conveniente e seguro para aumentar a proteção antioxidante, particularmente naqueles pacientes com risco de doença isquêmica cardíaca ou nos que irão ser submetidos a procedimentos clínicos que envolvem períodos transitórios de hipóxia do miocárdio. (VENARDOS; KAYE, 2007).

O selênio preveniu o aumento das concentrações de LDL (-) e a susceptibilidade de oxidação da LDL na fase pós-prandial (NATELLA *et al*, 2006). Por outro lado, pacientes com doença arterial coronariana suplementados com selênio na forma de selenito, apresentaram aumento da atividade da GPx-1, reforçando o papel antioxidante do selênio (SCHNABEL *et al*, 2008).

Em modelos animais, foi constatado que a suplementação de selênio favoreceu ao aumento da atividade e expressão do mRNA do receptor de LDL, durante a hipercolesterolemia, sugerindo um potencial terapêutico para a suplementação de selênio no metabolismo lipídico (DHINGRA e BANSAL, 2006<sup>c</sup>). Esta intervenção também foi responsável pela diminuição da expressão da apolipoproteína B e da HMG-CoA redutase durante a hipercolesterolemia, reforçando a relação do selênio no metabolismo lipídico (DHINGRA e BANSAL, 2006<sup>d</sup>). Ainda em modelos animais, foi encontrada associação entre a suplementação de selênio e o controle do estresse oxidativo endotelial vascular pela modificação do metabolismo do ácido araquidônico, reduzindo a expressão da molécula de adesão ICAM-1 (SORDILLO *et al*, 2008). O estudo de Zhang *et al* (2002) também confirma esta hipótese e complementa que além da ICAM-1, a suplementação de selênio modulou a expressão de VCAM-1 e E-selectina, via inibição do TNF $\alpha$ .

Sobre o uso de combinações de nutrientes como forma de suplementação oral, os benefícios do uso de suplementos de zinco e selênio são ressaltados pela relação com a manutenção da saúde e longevidade, principalmente em idosos. O *status* adequado de selênio e zinco pode favorecer uma melhor liberação de zinco da metalotioneína e, conseqüentemente, uma boa disponibilidade de zinco, bem como uma atividade da GPx

satisfatória (MOCCHIGIANI *et al*, 2008<sup>a</sup>). A suplementação diária com 20mg de zinco + 100µg de selênio por 2 anos em idosos institucionalizados, corrigiu a deficiência de selênio nos pacientes e melhorou a resposta humoral (GIRODON *et al*, 1999).

Pesquisadores comentam que existem evidências suficientes para afirmar que pacientes com alterações cardíacas são beneficiados com terapias de suplementação múltiplas de micronutrientes (WITTE; CLARK, 2006). Destaca-se que a suplementação de zinco parece ser mais eficaz se outros micronutrientes limitantes forem administrados simultaneamente (MARET; SANDSTEAD, 2006).

Com relação às prescrições de suplementação combinada no tratamento de pacientes com aterosclerose, os resultados dos estudos são controversos. Um trabalho de meta-análise publicado em 2006 por Bleys *et al*, o qual analisou estudos que envolviam suplementação combinada de antioxidantes (vitamina E, C, β-caroteno, e selênio) ou de vitaminas do complexo B (folato, vitamina B6 e B12), conclui que não há evidências para o efeito protetor dos antioxidantes e suplementos de vitamina B na progressão da aterosclerose, nem prevenção de estenose pós angioplastia, sugerindo que mais estudos ainda são necessários.

Por outro lado, a suplementação com 120mg de ácido ascórbico, 30mg de vitamina E, 6mg de β-caroteno, 100µg de selênio e 20mg de zinco ou placebo em 13.017 homens e mulheres adultos durante 7,5 anos, promoveu a diminuição da incidência de câncer e todas as causas de mortalidade em homens. Os autores explicam que este resultado foi efetivo em homens, considerando o *status* basal deficiente (HERCBERG *et al*, 2004). No entanto, observaram que em uma sub-amostra destes mesmos pacientes, submetidos a um ultra-som de carótida e avaliação da velocidade de pulsação da femural, a suplementação não foi efetiva na redução da formação das placas ateroscleróticas, comparado com o grupo placebo (ZUREIK *et al*, 2004).

No que se refere à redução da fração HDL induzida pelo uso das estatinas, Cheung *et al* (2001) estudaram o efeito de uma terapia combinada: sinvastatina+niacina; antioxidantes (vitamina E, C, β-caroteno e selênio); sinvastatina+niacina+antioxidantes; placebo, em pacientes com doença arterial coronariana. Os resultados demonstraram que a niacina combinada com a sinvastatina favoreceu o aumento da HDL, além da redução do colesterol total, triacilgliceróis e LDL.

### 3. OBJETIVOS

#### 3.1. Objetivo geral:

- Avaliar o efeito da suplementação oral de zinco e selênio sobre os marcadores de estresse oxidativo e inflamação, bem como o *status* de zinco e selênio em pacientes com aterosclerose, apresentando angina estável tratados com rosuvastatina.

#### 3.2. Objetivos específicos:

- Realizar a avaliação antropométrica e do consumo alimentar dos pacientes;
- Avaliar a glicemia, o perfil lipídico e as enzimas hepáticas aspartato aminotransferase (AST) e alanina aminotransferase (ALT) antes (T0) e após (T1) o tratamento;
- Identificar as concentrações de zinco e selênio plasmáticos e eritrocitários antes (T0) e após (T1) o tratamento;
- Avaliar a LDL(-), os anticorpos anti-LDL(-), os imunocomplexos Ac-LDL(-) e a atividade das enzimas antioxidantes (SOD e GPx) antes (T0) e após (T1) o tratamento;
- Avaliar os marcadores de inflamação (IL-6, PCR-as) antes (T0) e após (T1) o tratamento;

## 4. MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1. Protocolo Experimental

O estudo caracterizou-se por um ensaio clínico randomizado duplo-cego que foi desenvolvido com um grupo de pacientes adultos e idosos e diagnóstico clínico de doença arterial coronariana submetidos à angioplastia coronariana percutânea, atendidos no Serviço de Hemodinâmica do Natal Hospital Center (NHC)/Natal-RN, durante o período de janeiro de 2008 a abril de 2009 (**Figura 6**).

Os pacientes foram recrutados no referido serviço, triados pela pesquisadora e médica responsável, considerando os seguintes critérios de inclusão: pacientes adultos e idosos de ambos os gêneros com diagnóstico de aterosclerose por angiografia apresentando estenose de  $\geq 70\%$  da luz do vaso em pelo menos um segmento de uma das artérias epicárdicas maiores, ou estenose  $\geq$  de 50% do diâmetro do tronco da coronária esquerda, apresentando angina estável. Foram considerados como critérios de exclusão a presença de complicações cardíacas graves ou outras doenças como as da tireóide, hematológicas, congênitas, auto-imunes, hepatopatias, insuficiência renal, neoplasias, infecções associadas, osteoporose, pós-operatório, uso de antiácidos, antibióticos e suplementos vitamínicos-minerais, etilismo e tabagismo atual.

O tamanho amostral foi calculado assumindo-se 90% de poder estatístico para a detecção de uma diferença de no mínimo, 0,075nmol/mg entre as médias da LDLox do grupo suplementado e grupo placebo. Assumiu-se que a diferença de 0,075nmol/mg como sendo clinicamente significativa baseada em estudos prévios (MURPHY; MYORS, 2003; GOTTLIEB *et al*, 2005). Os parâmetros como média e variância populacional foram baseados em estudos com amostras robustas que avaliaram populações brasileiras semelhantes aos grupos a serem estudados (ARAÚJO *et al*, 2004; GOTTLIEB *et al*, 2005; LUZ *et al*, 2005 ). As simulações revelaram um tamanho amostral de 76 indivíduos (38 experimentais e 38 controles) para a detecção de um poder estatístico de 90% e um nível de significância de 0,05.

Até o final da triagem foram abordados 152 pacientes, destes: 12 se recusaram a participar; 28 apresentavam critérios de exclusão (câncer, angina instável, artrite, artrose, osteoporose, nefropatias), 09 faltaram no dia da coleta; 10 já faziam parte de outro protocolo de pesquisa; 16 iniciaram a pesquisa e não deram continuidade (óbito, indicação cirúrgica, depressão, desistência e efeitos colaterais), 01 foi excluído por falta dos dados sanguíneos iniciais (hemólise). Desta forma, a amostra foi composta por 76 pacientes que foram



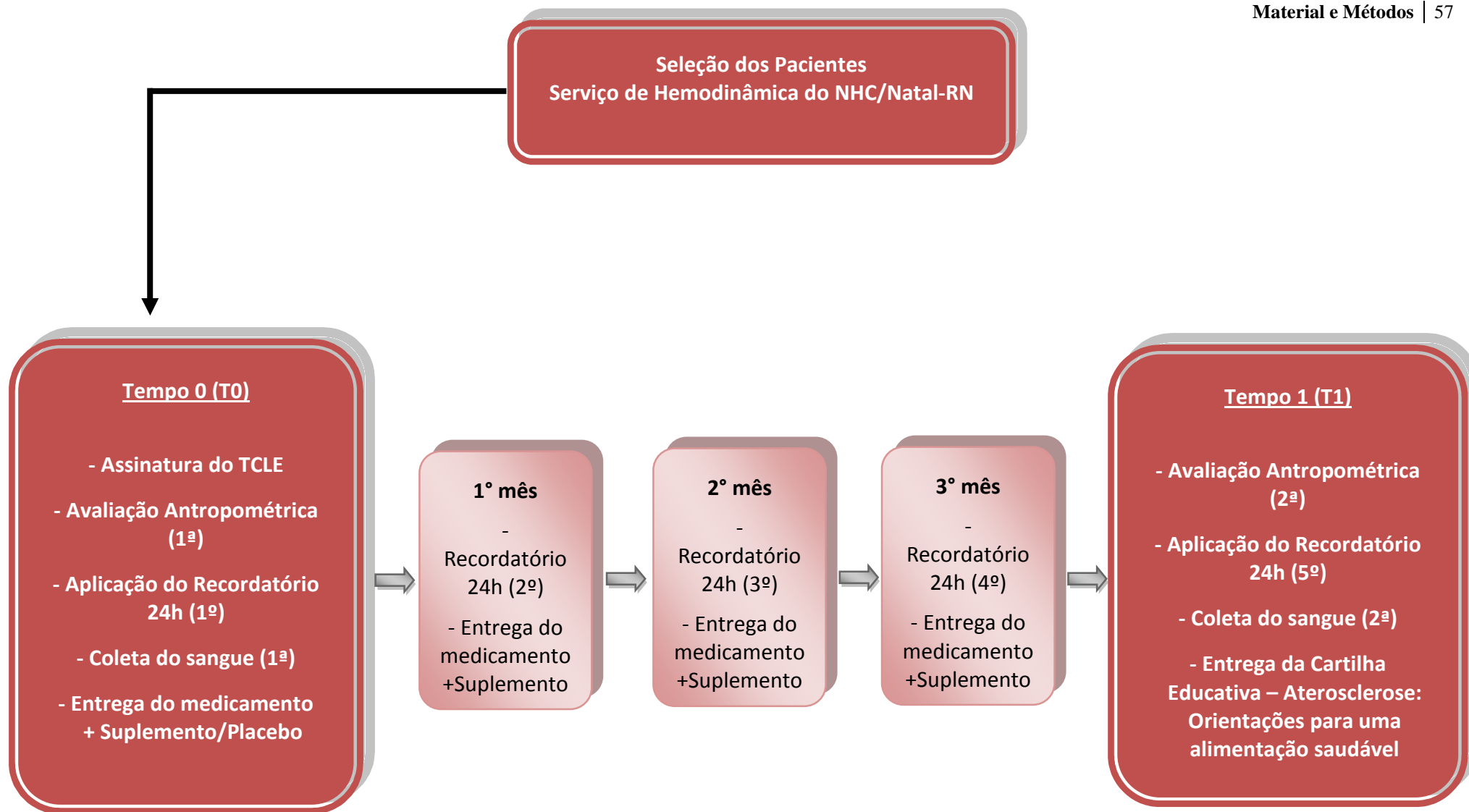
aleatoriamente escolhidos para compor os grupos: (1) Grupo Suplementado: estatina + suplemento zinco e selênio; (2) Grupo Placebo: estatina + placebo.

No primeiro contato com o paciente (Tempo 0) foram obtidas informações gerais, por meio de entrevista ou consulta em prontuário, realizada uma avaliação dietética e antropométrica, e preenchimento de formulário (**Anexo A**). A coleta de sangue foi realizada no primeiro momento e após 4 meses do tratamento e constou da avaliação dos seguintes parâmetros: glicemia, perfil lipídico (colesterol total, LDL, HDL, triacilgliceróis, colesterol não-HDL), AST e ALT, zinco no plasma e eritrócito, selênio no plasma e eritrócito, LDL(-), Anticorpos e imunocomplexos anti-LDL(-), SOD, GPx, PCR-as e IL-6). A medicação+suplemento/placebo era distribuída mensalmente, quando os pacientes retornavam ao ambulatório, sendo realizados procedimentos de avaliação da dieta, adesão do tratamento e ocorrência de possíveis efeitos colaterais. No segundo momento (Tempo 1), foram realizadas novas avaliações antropométricas, a última avaliação da dieta e coleta de sangue. Foram entregues também Cartilhas Educativas (**Aterosclerose: Orientações para uma alimentação saudável**) (**Anexo B**) contendo informações sobre a doença, a importância do tratamento dietético, bem como receitas que contemplavam alimentos fontes dos minerais, de forma a estimular a instituição de hábitos alimentares mais saudáveis (**Figura 6**).

#### 4.1.1 Aspectos Éticos

O estudo foi realizado em conformidade com as diretrizes regulamentadoras de pesquisas envolvendo seres humanos, que constam na Resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde (BRASIL, 1996) e foi analisado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário Onofre Lopes (HUOL) da Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN) (**Anexo C**) e da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo (USP) (**Anexo D**), obtendo-se parecer favorável (N<sup>o</sup> CAAE 0009.0.294.018-06 – SISNEP).

Os dados somente foram coletados após a permissão do paciente, por meio da assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) (**Anexo E**) aplicado pelo pesquisador responsável, mediante informações sobre os objetivos, riscos e benefícios do estudo. A pesquisa foi encerrada após a conclusão das etapas definidas no cronograma de atividades. O voluntário foi informado sobre a formação dos grupos suplementado e placebo, podendo o mesmo retirar seu consentimento a qualquer momento e deixar de participar da pesquisa, sem que isso trouxesse qualquer prejuízo no seu acompanhamento.



**Figura 6** - Fluxograma de atividades desenvolvidas para seleção e acompanhamento de pacientes

#### 4.2. Composição e preparo da suplementação de zinco + selênio ou placebo

A suplementação de zinco e selênio foi preparada a partir da matéria prima Zinc Chelazome<sup>®</sup> (*zinc bis-glycine chelate*) (número de catálogo 3506, lote 262761) e Selênio Complexo<sup>®</sup> (*selenium aminoacid complex*) (número de catálogo 3523, lote 362241) (na forma de selenito), doados pela *Albion Laboratories Incorporation*<sup>®</sup>. A opção pelos minerais aminoácidos quelatos deveu-se pelo fato dos mesmos não serem hidrolisados no trato gastrointestinal, sendo melhor absorvidos. Além disso, por estarem ligados a aminoácidos, os efeitos colaterais em doses terapêuticas são minimizados, ao contrário dos sais minerais.

A fórmula farmacêutica foi manipulada na Farmácia de Manipulação Companhia da Fórmula<sup>®</sup> – Natal/RN, sob a responsabilidade da Diretora Técnica Farmacêutica Maria Eliene Mendes de Freitas, de acordo com as recomendações do fabricante e preparada uma cápsula única contendo os dois minerais. As cápsulas eram preparadas sempre em quantidade suficiente para 1 mês (30 cápsulas por frasco), contendo a seguinte formulação:



#### FÓRMULA DO SUPLEMENTO ZINCO + SELÊNIO:

Zinco..... 150mg de Zinc Chelazome<sup>®</sup> - Dosagem final de 30mg de Zn por cápsula  
 Selênio..... 15mg Selênio Complexo<sup>®</sup> - Dosagem final de 150µg de Se por cápsula  
 Excipiente 13.....qsp..... 400mg

#### FÓRMULA DO PLACEBO:

Excipiente 13.....qsp.. 300mg

#### FÓRMULA DO EXCIPIENTE 13:

Talco farmacêutico..... 10%  
 Estearato de magnésio..... 1%  
 Aerosil (silício coloidal)... 1%  
 Celulose microcristalina.... 10%  
 Amido.....qsp..... 100%

Foram utilizadas cápsulas gelatinosas duras com corpo branco e tampa vinho, tamanho 0. A opção pela cor da cápsula deveu-se pela necessidade de mascarar a coloração rósea da matéria prima do selênio. O controle de qualidade do produto final era avaliado sob dois aspectos: (1) peso médio das cápsulas - avaliação da uniformidade no preenchimento das cápsulas com a mistura de pós, contendo os ingredientes ativos e excipientes, permitindo conclusões sobre a distribuição equitativa das diversas unidades que constituíam o lote; (2) desvio padrão - determinação da amplitude de variação em torno da média do conjunto das medidas dos pesos das cápsulas. Um menor valor de dispersão em relação à média se traduz em uma maior uniformidade entre as unidades testadas (cápsulas). O desvio-padrão máximo aceitável foi de 5. Após estes testes, o produto era liberado caso houvesse aprovação.

Foram realizadas análises do conteúdo de minerais das cápsulas por amostragem, cujos resultados revelaram um teor de zinco de  $26,75 \pm 0,6$ mg e  $155,2 \pm 5,5$ µg de selênio. Não foram detectadas concentrações de zinco e selênio nas cápsulas utilizadas como placebo.

#### 4.3. Controle do “cegamento” do estudo

Considerando o caráter do estudo duplo-cego, nem os pesquisadores envolvidos diretamente no acompanhamento e análises posteriores das variáveis coletadas, nem os pacientes, tomaram conhecimento de qual grupo faziam parte. O controle do cegamento do estudo era realizado pela Farmacêutica Diretora Técnica da Farmácia de Manipulação Companhia da Fórmula<sup>®</sup>. Os frascos de suplementos/placebo recebiam códigos e os pedidos eram entregues sempre em quantidade de 10 frascos por vez, dentre estes 50% era suplementação e 50% placebo.

Todas as informações sobre as codificações e pedidos, com suas respectivas datas eram anotadas em formulários próprios pela Farmacêutica responsável (**Anexo F**). À medida que os pacientes recebiam aleatoriamente os frascos, os mesmos eram codificados de acordo com a numeração do respectivo frasco que lhe foi entregue. Ao final de todos os acompanhamentos e análises das variáveis do estudo, o envelope contendo os formulários com as informações foram entregues ao Coordenador responsável pelo projeto em Natal, que realizou o “descegamento”, após as planilhas contendo os dados estarem prontas para o envio para o estatístico.

#### 4.4. Administração da suplementação de zinco+selênio ou placebo/estatinas

Após a coleta dos dados antropométricos, dietéticos e bioquímicos iniciais, e prescrição da estatina pela médica responsável (rosuvastatina 10mg - Crestor®, AstraZeneca®), a suplementação/placebo e a estatina foi distribuída aleatoriamente, sendo oferecidas as orientações aos pacientes e/ou acompanhantes quanto aos cuidados com a administração e quantidade, ressaltando a importância do tratamento para o controle da doença (**Anexo G**).

Para a determinação das doses dos minerais foram consideradas as recomendações do FNB-IOM (2000<sup>a</sup>;2001) que definem a ingestão diária máxima de zinco e selênio para adultos de ambos os sexos acima de 31 anos de 40mg/dia e 400µg/dia, respectivamente. Portanto, considerando os riscos de toxicidade, bem como os resultados de estudos prévios de avaliação da ingestão de zinco e selênio em pacientes portadores de doenças crônicas não transmissíveis atendidos em Ambulatório da Cidade de Natal, que revelaram uma ingestão média de 7mg/dia de zinco e 50µg/dia de selênio (dados não publicados), as doses foram definidas em 30mg/Zn/dia e 150µgSe/dia.

Considerando que a atividade da HMG-CoA redutase e biosíntese de colesterol é maior à noite (variação circadiana), normalmente recomenda-se que as estatinas sejam administradas neste horário ou ao deitar para o efeito máximo (KNOPP, 1999). Apesar dos efeitos farmacodinâmicos e farmacocinéticos da rosuvastatina não serem dependentes do horário da dose (manhã ou noite) (MARTIN; MITCHELL; SCHNECK, 2002), optou-se por manter a indicação do horário da noite (após jantar), tendo em vista que esta já era uma rotina para alguns pacientes e que a maioria das outras medicações eram prescritas para o horário da manhã. Visando minimizar os lapsos de memória, a orientação foi que o suplemento fosse administrado no mesmo horário.

Juntamente com a medicação+suplemento/placebo em quantidade suficiente para 1 mês, foram distribuídas aos pacientes cartelas (**Anexo G**) contendo os dias da semana, que deveriam ser marcados, logo que a medicação+suplemento/placebo fosse administrado. Esta técnica foi utilizada para estimular o tratamento, orientar os pacientes quanto à administração, além de ser uma forma de controle da equipe de pesquisa quanto à adesão da prescrição.

O tratamento teve a duração de 4 meses, período suficiente para se observar alteração eritrocitária das concentrações dos minerais, e a cada mês, os pacientes eram orientados a retornar ao ambulatório, para receberem outra cartela e uma nova dose da medicação+suplemento/placebo, devendo-se levar a cartela do mês anterior devidamente

preenchida. Neste momento, eram esclarecidas dúvidas, e investigada a presença de alguma intercorrência ou efeitos colaterais.

## 4.5. Avaliação Antropométrica

### 4.5.1 Índice de Massa Corporal (IMC)

Para o cálculo do IMC (peso (kg) / estatura (m)<sup>2</sup>) foram utilizadas as medidas de peso e altura. O peso foi aferido em duplicata utilizando-se a balança digital solar Tanita<sup>®</sup>, modelo MEA-03140, com capacidade para 150 kg e precisão de 100 gramas, estando o indivíduo em pé, no centro da base da balança, descalço e com roupas leves. A altura foi aferida com auxílio de estadiômetro portátil Cardiomed<sup>®</sup>, 216cm com plataforma. O indivíduo foi orientado a permanecer em posição ortostática, com a cabeça mantida no plano *Frankfurt*, com as costas e a parte posterior dos joelhos encostados à parede. O IMC foi classificado de acordo com os pontos de corte propostos pela WHO (2004) (**Tabela 1**).

**Tabela 1** - Classificação do IMC para adultos, segundo a WHO (2004)

IMC (kg / m <sup>2</sup> )	Classificação
< 18,5	Magreza
18,5 a 24,9	Eutrófico
25,0 a 29,9	Sobrepeso
30,0 a 34,9	Obesidade grau I
35,0 a 39,9	Obesidade grau II
≥40,0	Obesidade grau III

### 4.5.2 Circunferência Abdominal

A medida da circunferência abdominal foi feita com uma fita inelástica com o paciente em pé. A fita circundou o indivíduo no ponto médio entre a crista ilíaca e o rebordo costal inferior. A leitura foi feita no momento da expiração. Os pacientes foram classificados segundo os pontos de corte estabelecidos pela WHO (2004) (**Tabela 2**).

**Tabela 2** - Pontos de corte estabelecidos pela WHO para medida da circunferência abdominal e sua relação com o risco para as doenças cardiovasculares

Sexo	Risco para doenças cardiovascular	
	Aumentado	Muito aumentado
<b>Homens</b>	≥ 94 cm	≥ 102 cm
<b>Mulheres</b>	≥ 80 cm	≥ 88 cm

#### 4.6. Avaliação Dietética

A dieta foi avaliada por meio da aplicação do método Recordatório de 24 Horas (**Anexo H**), que foi aplicado no primeiro contato com o paciente e repetindo 4 vezes, durante os retornos ao hospital, totalizando 5 recordatórios por paciente.

No momento da coleta de dados, para auxiliar na estimativa das porções e utensílios, utilizou-se um Registro Fotográfico de Alimentos e Utensílios, elaborado baseando-se em outros registros previamente publicados (ZABOTTO; VIANA; GIL, 1996; ANDRADE, 2005). Para complementar as informações, foram realizadas fotografias de alimentos regionais e utensílios que não constavam nos materiais consultados.

Os alimentos e/ou preparações informados pelos pacientes foram convertidos das suas medidas caseiras para o seu peso correspondente em gramas (g), utilizando-se material publicado (TOMITA; CARDOSO, 2002; PINHEIRO *et al*, 2008; ARAÚJO; GUERRA, 2007; MOREIRA, 2002; FISBERG; VILLAR, 2002; ZABOTTO; VIANA; GIL, 1996; ANDRADE, 2005), bem como o rótulo do fabricante dos alimentos industrializados. As quantidades dos alimentos e/ou preparações que não tiveram o peso da medida caseira relatada descrita nas tabelas consultadas, foram definidas pesando-se o alimento e/ou preparação com o auxílio de balanças eletrônicas digitais no Laboratório de Técnica Dietética – Departamento de Nutrição/UFRN.

Diante das dificuldades em relação ao teor de selênio dos alimentos, já que nos deparamos com tabelas contendo informações incompletas ou mesmo porque a concentração de selênio sofre muita influência do solo em que este alimento foi cultivado, optou-se por considerar, preferencialmente para as análises as informações sobre teor de selênio dos alimentos brasileiros apresentadas no artigo publicado por Ferreira *et al* (2002). Pelo fato da maioria dos dados apresentados serem de alimentos crus, foram realizadas as devidas conversões das preparações dos alimentos cozidos para os ingredientes crus, baseados em

fatores de correção e cocção, preparando-se as fichas técnicas baseadas em Araújo e Guerra (2007).

Posteriormente os alimentos listados foram analisados com o auxílio de um programa computadorizado para cálculo de dietas, o Virtual Nutri Plus 2.0<sup>®</sup>. O banco de dados do referido programa foi atualizado inserindo-se dados de composição química de alimentos provenientes de tabelas brasileiras (FERREIRA *et al*, 2002; TACO, 2006), internacionais *United States Department of Agriculture* (USDA) (2008) e rótulos dos produtos industrializados.

A adequação da dieta foi avaliada após obtenção da média de consumo a partir dos 5 recordatórios aplicados. Os resultados da ingestão de macronutrientes e fibra foram comparados com as recomendações da SBC (2007), e energia conforme FNB-IOM, (2005). As ingestões de zinco e selênio foram avaliadas de acordo com as *Dietary Reference Intakes* (DRI) (FNB-IOM, 2000<sup>a</sup>; FNB-IOM, 2001), analisando os valores da *Estimated Average Requirement* (EAR). A estimativa da distribuição alimentar habitual do grupo foi realizada pela aplicação de testes estatísticos para se obter os valores dos nutrientes ajustados pela variabilidade intra e interpessoal e energia.

## **4.7. Materiais e procedimentos laboratoriais**

### **4.7.1. Lavagem de material**

Toda vidraria e recipientes plásticos utilizados durante a coleta de sangue e análises de minerais foram cuidadosamente desmineralizados em banho de ácido nítrico a 30%, por no mínimo 12 horas, e enxaguados em água desionizada e/ou ultra-pura (Milli-Q<sup>®</sup>) 10 vezes para minimizar a contaminação por minerais (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 1985).

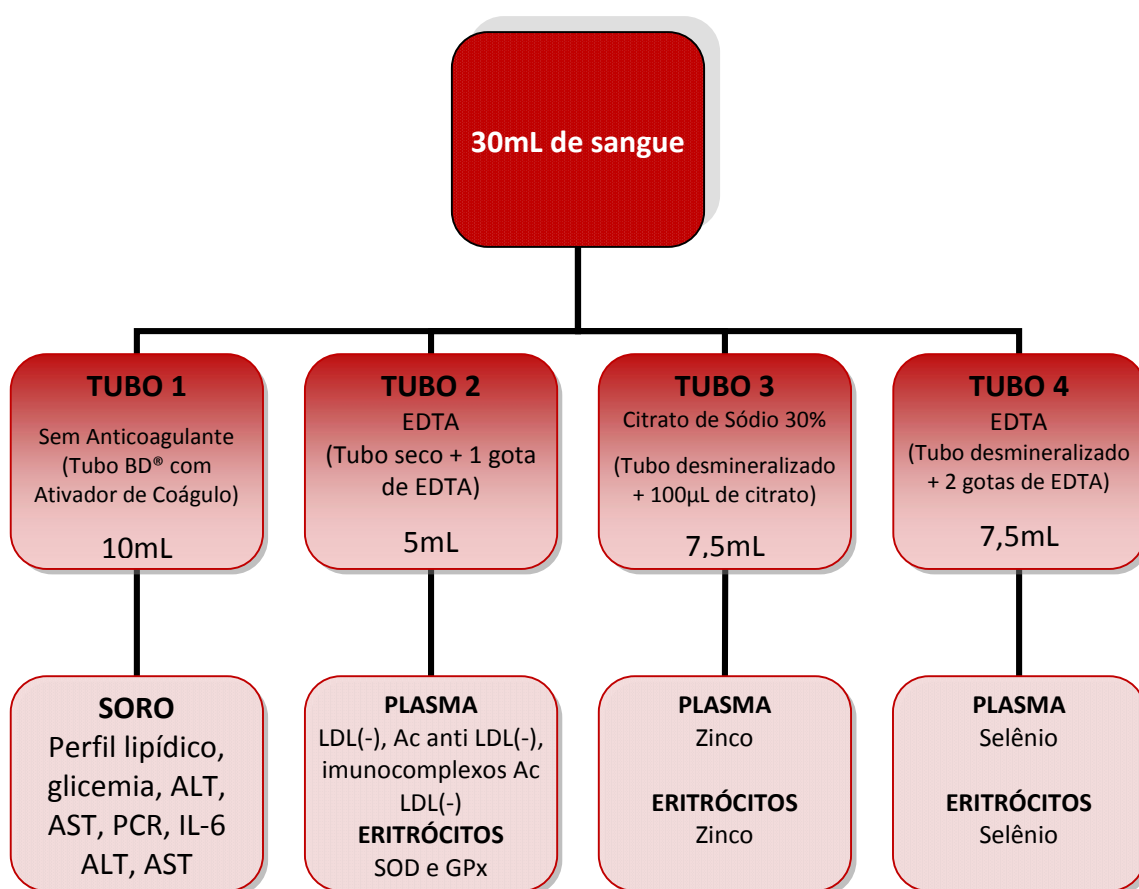
### **4.7.2. Reagentes**

Os reagentes utilizados nas análises tiveram grau de pureza analítica. A água utilizada para o preparo de soluções e diluição das amostras foi desionizada e/ou ultra-pura (Milli-Q<sup>®</sup>).



### 4.7.3. Coleta do Material Biológico

As amostras de 30mL de sangue dos pacientes foram coletadas com material descartável, pela manhã, após um período de 12 a 14 horas de jejum. Em seguida, o sangue foi distribuído em tubos, com ou sem anticoagulantes, submetidos aos procedimentos específicos, e separadas as alíquotas suficientes para cada análise (**Figura 7**). Para as dosagens que não eram realizadas no dia da coleta, as alíquotas foram armazenadas à temperatura de  $-80^{\circ}\text{C}$ , para posterior análises, conforme quadro abaixo:



**Figura 7** – Distribuição das amostras de sangue nos tubos para dosagens bioquímicas

## 4.8. Análises Bioquímicas

### 4.8.1. Avaliação da Glicemia, Perfil Lipídico e Enzimas Hepáticas

Estas análises foram realizadas no soro, separado após centrifugação de 3500RPM por 15 minutos, 4°C, utilizando-se a centrífuga Sigma® 2K15 (Alemanha). As análises foram realizadas no Laboratório de Análises Clínicas do HUOL/UFRN por meio do aparelho Analisador Imunoquímico modelo AU400e (Olympus®, Estado Unidos da América (EUA)), utilizando-se os kits do Laboratório Olympus®, respectivo para cada análise. O controle de qualidade seguiu as normas preconizadas pelo Programa Nacional de Controle de Qualidade da Sociedade Brasileira de Análises Clínicas (SBAC).

Para uma caracterização geral do perfil glicêmico e funcionamento hepático dos pacientes, foram realizadas medidas da glicemia de jejum e das concentrações de AST e ALT.

O perfil lipídico foi avaliado a partir da determinação das concentrações plasmáticas de colesterol total, triacilgliceróis, LDL e HDL. A determinação da fração LDL foi realizada por meio da Fórmula de *Friedewald* ( $LDL = \text{colesterol total} - HDL + (\text{triacilgliceróis} / 5)$ ), quando as concentrações de triacilgliceróis forem  $< 400\text{mg/dL}$ , segundo a SBC (2007). Foi utilizada também a medida do colesterol não-HDL ( $\text{colesterol total} - HDL$ ) de acordo com o *National Cholesterol Education Program* (NCEP) III (2002) que representa a soma das frações LDL e VLDL. Como critérios de classificação do perfil lipídico, serão considerados os valores de referência para adultos  $> 20$  anos preconizados pela SBC (2001).

### 4.8.2. Avaliação bioquímica do zinco e selênio

#### 4.8.2.1. Material de Referência

Para certificação das análises de minerais foram utilizados como materiais de referência os padrões *Seronorm™ Trace Elements Serum L-1* (Noruega) (Referência 201405, Lote JL4409), preparados de acordo com as recomendações do fabricante. Estes padrões foram utilizados tanto nas análises de zinco e selênio no plasma e eritrócitos, tendo em vista a ausência de padrões certificados para avaliação das análises de minerais em eritrócitos.

#### 4.8.2.2. Determinação do zinco plasmático e eritrocitário

O sangue coletado para as análises de zinco foi inicialmente centrifugado a 3500RPM por 15 minutos, 4°C, e separado o plasma. O concentrado de hemácias sofreu 3 lavagens subsequentes com 5mL de solução de cloreto de sódio a 0,9%, rotação de 4.000RPM, a 4°C, durante 10 minutos. Estes procedimentos foram realizados utilizando-se a centrífuga Sigma® 2K15 (Alemanha) do Laboratório Multidisciplinar de Pesquisa do Centro de Ciências da Saúde – UFRN. O material foi armazenado a -20°C até as análises.

A determinação de zinco no plasma e no eritrócito foi realizada por espectrofotometria de absorção atômica, utilizando-se o equipamento Spectra Varian AA-240 (Varian®, EUA), Centro de Tecnologia/NTI, NUPEG 20, Engenharia Química - UFRN, calibrado nas seguintes condições de trabalho: comprimento de onda 231,9nm, fenda 1,0 nm, amperagem 5,0mA, fator de expansão 1,0 e fluxo da amostra 5mL/min. Como padrão foi utilizada a solução de zinco Tritisol da Merck® (Alemanha), definindo-se os pontos na curva, nas concentrações de 0,0; 0,1; 0,2; 0,3; 0,5 e 1,0 µg/mL. As curvas foram preparadas para a leitura da concentração de zinco no plasma e eritrócito, com adição de glicerol na concentração de 5%, e acondicionadas sob refrigeração. As análises foram realizadas em duplicata e o resultado foi obtido a partir das médias dos valores, estabelecendo-se um coeficiente de variação inferior a 10%.

A determinação da concentração de zinco no plasma foi realizada segundo o método proposto por Rodrigues *et al* (1989). Alíquotas de 500µL de cada amostra de plasma foram preparadas diluindo-se em água deionizada, na proporção de 1:4 e aspiradas diretamente na chama do aparelho. Os resultados foram expressos em µg Zn/dL. Já as análises de zinco no eritrócito foi feita de acordo com Whitehouse *et al* (1982), seguindo a padronização de metodologia definida por Sena *et al* (2005), na qual se constatou um nível de precisão desejável nas análises e não interferência de matriz. Uma alíquota de 300µL de eritrócito foi diluída com água ultra-pura (Milli-Q®) na proporção de 1:3 e em seguida pipetados 200µL deste lisado (lisado 1), em triplicata, para uma diluição subsequente na proporção de 1:9 (lisado 2). Após homogeneização, as amostras do lisado 2 foram lidas diretamente em chama. Os resultados foram expressos em µg Zn/mL e µg de Zn/g Hb.

#### 4.8.2.3. Determinação do selênio plasmático e eritrocitário

O sangue coletado para as análises de selênio foi inicialmente centrifugado a 3500RPM por 15 minutos, 4°C, utilizando-se a centrífuga Sigma® 2K15 (Alemanha) do Laboratório Multidisciplinar de Pesquisa do Centro de Ciências da Saúde – UFRN, e separado o plasma. O concentrado de hemácias sofreu 3 lavagens subsequentes com 5mL de solução de cloreto de sódio a 0,9%, rotação de 10.000RPM, a 4°C, durante 10 minutos, utilizando-se a centrífuga Thermo® do Laboratório Multidisciplinar de Pesquisa do Centro de Ciências da Saúde – UFRN. O material foi armazenado a -80°C até as análises.

As análises de selênio foram realizadas no Laboratório de Nutrição e Minerais- USP por espectrofotometria de absorção atômica (HITACHI®, modelo Z-5000, Japão) com geração de hidretos acoplados à cela de quartzo, conforme padronização realizada por Gonzaga (2002). O aparelho foi calibrado nas seguintes condições de trabalho: comprimento de onda 196nm, fenda 1,3 nm, amperagem 13,5mA, fator de expansão 1,0 e fluxo da amostra 2mL/min. Como padrão foi utilizada a solução de zinco Tritisol da Merck® (Alemanha), definindo-se os pontos da curva, nas concentrações de 0,0; 0,1; 0,3; 0,5; 1,0; 3,0 e 5,0 µg/mL. As curvas foram preparadas para a leitura da concentração de selênio no plasma e eritrócito, com adição de ácido clorídrico (HCl) 1,2N na concentração de 20%, e acondicionadas sob refrigeração. As análises foram realizadas em triplicata e o resultado foi obtido a partir das médias dos valores, estabelecendo-se um coeficiente de variação inferior a 10%.

Na fase 1 do experimento foi acrescentado 10mL de ácido nítrico 68%(PA Merck®, Alemanha) às amostras de plasma ou eritrócito (320µL) e o branco, mantendo em repouso *overnight* em capela. No dia seguinte, foi realizada a digestão das amostras no bloco digestor a uma temperatura de 150°, iniciando com 50°C aumentando gradativamente, por um período aproximado de 12 horas (plasma) ou 16 horas (eritrócito), de forma que a amostra ficasse transparente. Neste período os tubos foram agitados a cada 3 horas. Após este período, o bloco digestor foi desligado e com os tubos frios, foi acrescentado 5mL de HCl 1,2N, voltando ao aquecimento por 2 horas até 100°C para redução do Se(VI) em Se(IV). Paralelamente, foi preparada uma solução de borohidreto de sódio (NaBH<sub>4</sub>), utilizada como reagente redutor no processo de determinação do selênio. Os resultados das leituras foram expressos em µg/L.

### 4.8.3. Determinação da Hemoglobina no Eritrócito

Esta análise foi realizada com a finalidade de expressar os resultados de zinco/massa de hemoglobina GPx e SOD/massa de hemoglobina. Foram utilizados kits de reagentes da *Labtest Diagnóstica*®. Em tubos de ensaio foram pipetados 5 mL do reagente de cor (RCOR CAT 43). Em seguida foram adicionados 20µL da amostra de eritrócitos. Após agitação, as leituras foram realizadas por espectrofotometria em aparelho *RA-50 Chemistry System* (Bayer Diagnóstica, Alemanha). Os resultados foram expressos em g/dL.

### 4.8.4. Avaliação da LDL (-), Ac anti-LDL (-) e Imunocomplexos Ac-LDL(-)

Dentro do menor prazo possível após a coleta, as amostras foram centrifugadas a 3.500RPM durante 15 minutos, 4°C, utilizando-se a centrífuga *Sigma*® 2K15 (Alemanha) do Laboratório Multidisciplinar de Pesquisa do Centro de Ciências da Saúde – UFRN. O plasma obtido foi aliquoteado e armazenados a -80°C até a realização dos ensaios, adicionando-se anteriormente uma mistura contendo os seguintes inibidores de proteases: aprotinina (*Sigma-ALDRICH*® Steinheim, Germany), benzamidina (*Sigma-Aldrich*® Steinheim, Germany), fenil-metil sulfonil fluoreto (PMSF) (*Sigma-Aldrich*® Steinheim, Germany) e hidroxitolueno butilato (BHT) (*Sigma-Aldrich*® Steinheim, Germany) (5µL para cada 100µL de amostra). As concentrações finais de antioxidantes nas amostras foram de: aprotinina = 2µg/mL, benzamidina = 2 mM, PMSF = 1 mM e BHT = 20 mM.

#### 4.8.4.1 ELISA para a determinação da LDL(-)

Microplacas de poliestireno com 96 poços foram sensibilizadas com 10µg/mL/poço de anticorpo monoclonal anti LDL- 1A3H2 diluído em tampão carbonato-bicarbonato 0,1M pH 9,6 e aplicado 50µL/poço, para em seguida ser incubado por 16-18 horas 4°C. O sobrenadante foi descartado e as placas foram lavadas três vezes com 200µL de tampão PBS-Tween 0,05% e batida posteriormente para retirada do excesso de líquido. A partir daí as placas foram bloqueadas com 150 µL/poço de uma solução de PBS-Tween 0,01% e leite desnatado a 2% (*Molico*®, *Nestlé*), previamente inativado pelo aquecimento a 100°C e filtrado em gaze. Após 1 e ½ hora de incubação a 37°C, o sobrenadante foi desprezado e repetido o procedimento de

lavagem descrito anteriormente. Foi aplicado 50  $\mu\text{L}$ /poço da amostra diluída 1:2000 em PBS-Tween 0,01% leite desnatado 1%, em triplicata. Para a curva padrão foi utilizado LDL(-) (concentração de 283 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) obtida a partir de plasma humano e realizados todos os procedimentos de purificação. O material foi incubado por 1 e  $\frac{1}{2}$  hora a 37°C. Após novo procedimento de lavagem, as placas foram incubadas com o anticorpo monoclonal anti-LDL(-)2C7D5F10 conjugado com biotina 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ /poço, diluído em PBS-Tween 0,01% leite desnatado 1% e aplicado 50 $\mu\text{L}$ /poço, por 1 hora a 37°C. As placas foram lavadas 4 vezes e permaneceu de molho por 30 segundos. Adicionou-se 50 $\mu\text{L}$ /poço de streptavidina conjugada com peroxidase por 1 hora 37°C. A reatividade da peroxidase foi medida nas placas lavadas e incubadas com orto-fenilenediamina (OPD) diluído em tampão citrato-fosfato pH5,3 adicionado de 5 $\mu\text{L}$  de peróxido de hidrogênio (50 $\mu\text{L}$ /poço) por 15 minutos a 37°C. A reação foi parada após a adição de ácido sulfúrico 2M (50 $\mu\text{L}$ /poço) e a absorbância a 492nm foi medida usando leitora de microplacas (*Spectra Count Microplate Photometer, Packard Instruments Company, EUA*). As análises foram realizadas no Laboratório de Bioquímica Clínica da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo e os valores foram expressos em U/L.

#### 4.8.4.2 ELISA para a determinação de Ac anti LDL(-)

Microplacas de poliestireno com 96 poços foram sensibilizadas com 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ /poço de LDL(-) purificada e diluída em tampão carbonato-bicarbonato 0,1M, pH 9,6 (50 $\mu\text{L}$ /poço), para em seguida ser incubado por 16-18 horas 4°C. O sobrenadante foi descartado e as placas foram lavadas três vezes com 200 $\mu\text{L}$  de tampão PBS-Tween 0,05% e batida posteriormente para retirada do excesso de líquido. A partir daí as placas foram bloqueadas com 150  $\mu\text{L}$ /poço de uma solução de PBS-Tween 0,01% e leite desnatado a 2% (Molico<sup>®</sup>, Nestlé), previamente inativado pelo aquecimento a 100°C e filtrado em gaze. Após 1 e  $\frac{1}{2}$  hora de incubação a 37°C, o conteúdo foi desprezado e repetido o procedimento de lavagem descrito anteriormente. Foi aplicado 50  $\mu\text{L}$ /poço da amostra diluída 1:300 em PBS-Tween 0,01% leite desnatado 1%, em triplicata. Para a curva padrão foi utilizado o anticorpo monoclonal anti LDL(-) MAb2C7D5F10. O material foi incubado por 1 e  $\frac{1}{2}$  hora a 37°C. Após novo procedimento de lavagem as placas foram incubadas com anti-IgG humana conjugado com peroxidase, diluída 1:3500 em PBS-Tween 0,01% leite desnatado 1%, aplicada no lado das amostras (50 $\mu\text{L}$ /poço); e com anti-IgG de camundongo, diluída 1:3500 em PBS-Tween 0,01% leite

desnatado 1% conjugado com peroxidase, aplicado na curva padrão (50µL/poço). A placa permaneceu em estufa 1 hora a 37°C. As placas foram lavadas 4 vezes e incubadas por 30 segundos e batidas. A reatividade da peroxidase foi medida nas placas lavadas e reveladas após aplicação de tetrametilbenzidina (TMB) (50µL/poço) por 15 minutos a 37°C. A reação foi parada com a adição de ácido sulfúrico 0,5M (50µL/poço) e a absorbância a 450nm foi medida usando leitora de microplacas (SLT SPECTRA A-5082®- *SLT Labinstruments, Austria*). As análises foram realizadas no Laboratório de Bioquímica Clínica da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo e os valores foram expressos em mg/L.

#### 4.8.4.3 ELISA para a determinação de imunocomplexos Ac - LDL(-)

Microplacas de poliestireno com 96 poços foram sensibilizadas com 5µg/mL/poço com a porção Fab do anticorpo anti LDL(-) MAb2C7D5F10, diluído em tampão carbonato-bicarbonato 0,1M, pH 9,6 (50µL/poço), para em seguida ser incubado por 14-16 horas 4°C. O sobrenadante foi descartado e as placas foram lavadas cinco vezes com 200µL de tampão PBS-Tween 0,05%, incubando-se 30 segundos a cada lavagem e batida posteriormente, para retirada do excesso de líquido. A partir daí as placas foram bloqueadas com 150 µL/poço de uma solução de PBS-Tween 0,01% e leite desnatado a 5% (Molico®, Nestlé), previamente inativado pelo aquecimento a 100°C e filtrado em gaze. Após 1 e ½ hora de incubação a 37°C, o sobrenadante foi desprezado e repetido o procedimento de lavagem descrito anteriormente. Foi aplicado 50 µL/poço da amostra diluída 1:50 em PBS-Tween 0,01% leite desnatado 1%, em triplicata. Para a curva padrão foi utilizado um pool de IgG humano, após aplicação de procedimentos de purificação. O material foi incubado por 1 e ½ hora a 37°C. Após novo procedimento de lavagem as placas foram incubadas com anti-IgG humana (Fc) conjugado com peroxidase, diluída 1:4000 em PBS-Tween 0,01% leite desnatado 1%, aplicada 50µL/poço. A placa permaneceu em estufa 1 hora a 37°C. As placas foram lavadas conforme descrito anteriormente. A reatividade da peroxidase foi medida nas placas lavadas e reveladas após aplicação de TMB (50µL/poço) por 12 minutos a 37°C. A reação foi parada após a adição de ácido sulfúrico 0,5M (50µL/poço) e a absorbância a 450nm foi medida usando leitora de microplacas (SLT SPECTRA A-5082®- *SLT Labinstruments, Austria*). As análises foram realizadas no Laboratório de Bioquímica Clínica da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo e os valores foram expressos em g/L.

#### 4.8.5. Avaliação de enzimas antioxidantes

Para as análises das enzimas SOD e GPx as amostras foram preparadas a partir de 5mL de sangue total coletado com anticoagulante EDTA. Após a coleta e separação do plasma, seguiram-se 3 lavagens com solução de cloreto de sódio a 0,9%, rotação de 4.500RPM, a 4°C, durante 10 minutos, utilizando-se a centrífuga Sigma® 2K15 (Alemanha) do Laboratório Multidisciplinar de Pesquisa do Centro de Ciências da Saúde – UFRN. Os eritrócitos foram armazenados à -80°C até as análises, realizadas em um prazo máximo de 40 dias após a coleta.

##### 4.8.5.1. Determinação da Atividade da GPx

A atividade da enzima GPx foi avaliada utilizando-se o kit RANSEL (RS504)<sup>®</sup> do Laboratório Randox (*San Francisco*, EUA). Este método foi proposto por Paglia e Valentine (1967), cujo princípio se baseia na medida da velocidade de oxidação da GSH por hidroperóxido de cumeno catalisada pela GPx, presente no hemolisado (amostra do paciente), gerando água e GSSG. Na presença da GR e NADPH a GSSG é imediatamente convertida na forma reduzida (GSH), sendo monitorada a 340 nm quando o NADPH é convertido a NADP<sup>+</sup>. As leituras foram realizadas por meio do espectrofotômetro UV2100S Shimadzu<sup>®</sup> (Japão) a 340nm, 37°C, no Laboratório Multidisciplinar de Pesquisa, UFRN-RN e os resultados expressos em unidades por grama de hemoglobina (U/g Hb). Utilizou-se o material de referência RANSEL CONTROL (SC692)<sup>®</sup> do Laboratório Randox (*San Francisco*, EUA) para o controle das análises.

##### 4.8.5.2. Determinação da Atividade da SOD

A atividade da superóxido dismutase foi medida no eritrócito com o auxílio do kit RANSOD (SD125)<sup>®</sup> do Laboratório Randox (*San Francisco*, EUA). Este método emprega XO para gerar radicais O<sub>2</sub><sup>-</sup>, que reagem com o 2-(4-iodofenil)-3-(4nitrofenol)-5-cloreto de feniltetrazol (INT) para formar o vermelho de formazan. A atividade da superóxido dismutase foi medida por meio do grau de inibição desta reação. As leituras foram realizadas por meio do Espectrofotômetro UV2100S Shimadzu<sup>®</sup> (Japão) a 505nm, 37°C, no Laboratório Multidisciplinar de Pesquisa, UFRN-RN. Os resultados das leituras foram expressos em



unidades por grama de hemoglobina (U/g Hb). Como controle foi utilizado o material de referência RANSOD CONTROL (SD126)<sup>®</sup> do Laboratório Randox (*San Francisco*, EUA).

#### **4.8.6. Avaliação dos marcadores da inflamação**

##### **4.8.6.1. Determinação da PCR-as**

As concentrações de PCR-as foram quantificadas no soro em níveis de ultra-sensibilidade utilizando-se o kit *C-reactive protein CRP-hs*<sup>®</sup> 13927 (Latex Alta sensibilidade) da BioSystems S.A (Costa Brava, Barcelona), seguindo as orientações propostas no kit e os dados apresentados em mg/L. As análises foram realizadas por turbidimetria no Laboratório Alexander Fleming da rede privada de prestação de serviços em Natal, utilizando-se o aparelho automatizado Roche Hitachi-917<sup>®</sup> (*Roche Diagnostics Division*, Alemanha).

##### **4.8.6.2. Determinação da IL-6**

A determinação da IL-6 foi realizada no Laboratório de Bioquímica Clínica da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo, em triplicata, utilizando-se o kit *Human IL-6 (Interleukin-6) ELISA Ready-SET-Go!*<sup>®</sup> 88-7066 (eBioscience<sup>™</sup>, *San Diego, USA*), considerando as orientações do fabricante e as leituras realizadas em 450nm no luminômetro para microplacas, SLT SPECTRA A-5082<sup>®</sup> (*SLT Labinstruments, Austria*). Os dados foram expressos em pg/mL.

#### **4.9. Análises Estatísticas**

Os dados foram expressos como média $\pm$ desvio padrão ou mediana (intervalo interquartil) quando apropriado para variáveis contínuas. Contagens e proporções foram utilizadas para sumarizar variáveis binárias e categóricas. Para a comparação intra-grupo (pré vs pós representada por  $\Delta$ ) o teste “t” de *Student* para amostras pareadas ou o teste de *Wilcoxon* foram utilizados para comparar variáveis com distribuição normal e assimétrica, respectivamente. Devido à baixa prevalência de indivíduos em algumas celas para variáveis categóricas ou binárias, o teste exato de *Fisher* e suas extensões para tabelas de contingência  $2 \times k$  foi priorizado.

Para a comparação inter-grupo (suplementado vs controle denominado  $\delta = \Delta$  (grupo suplementado)–  $\Delta$ (grupo placebo) as variáveis com distribuição normal ou próxima da normal foram comparadas por meio do teste “t” de *Student* para amostras independentes. Entretanto, para as variáveis com distribuição assimétrica, o teste não-paramétrico de *Mann-Whitney* foi aplicado. Essa mesma hipótese foi examinada por análises de regressão linear, ajustando-se com as possíveis variáveis de confusão. Para esse fim, modelos de regressão linear univariada e/ou regressão linear múltipla foram construídos, tendo como variável dependente a resposta ( $\Delta$ ) de cada grupo, enquanto todas as demais covariáveis foram incluídas como variáveis explanatórias. A seleção do modelo final de melhor ajuste foi realizada pelo procedimento *stepwise backward*. Correlações entre variáveis foram testadas pelo coeficiente de correlação de *Spearman* ( $\rho$ ). O nível de significância  $\alpha$  adotado para todas as análises foi de 5%, exceto no procedimento de seleção *stepwise backward* que foi de 10%. O *software* utilizado foi o Stata 8.0® (*Stata Corporation, College Station, TX, EUA*).

#### 4.9.1. Avaliação dos dados dietéticos

Para a avaliação da ingestão dos nutrientes foram aplicados testes estatísticos específicos, no sentido de ajustar os dados considerando as variâncias intra e interpessoais e ingestão energética, resultando em valores mais precisos e exatos.

Inicialmente os dados brutos de ingestão dos pacientes dos grupos placebo e suplementado foram separadamente ajustados pela variância inter e interpessoal, aplicando-se testes de análises de variância (*One-Way ANOVA*), para obtenção das médias quadráticas dos grupos, que viabilizaram os cálculos das estimativas de variância intrapessoal ( $S^2_w$ ) e interpessoal ( $S^2_b$ ), da variância total ( $S^2_{obs}$ ) da distribuição observada, e consequentemente, do valor do nutriente ajustado pela variância intrapessoal (SLATER; MARCHIONI; FISBERG, 2004).

A partir dos dados ajustados pela variância intra e interpessoal, procedeu-se o ajuste pela energia proposto por Willet, Hone e Kushi (1997), verificando-se, a princípio, a normalidade dos dados, por meio do teste *Kolmogorov-Smirnov*. Posteriormente foi realizada uma análise de regressão linear simples, obtendo-se o valor estimado da ingestão do nutriente e calculado o resíduo da regressão, que é representado pela diferença de ingestão observada do nutriente e a ingestão estimada para cada indivíduo, de acordo com a ingestão calórica avaliada pela regressão linear. Adicionou-se a este, uma constante ao valor do nutriente residual, fornecendo a quantidade do nutriente ajustado, ou seja, sem influência da energia.

A prevalência de ingestão inadequada de zinco e selênio do grupo foi avaliada por meio da aplicação de fórmulas matemáticas específicas (FNB-IOM, 2000<sup>b</sup>). Para avaliação da ingestão de zinco, os grupos foram divididos entre o gênero masculino e feminino, tendo em vista os valores diferentes da EAR. Os dados dietéticos foram analisados com o auxílio do programa SPSS 17.0<sup>®</sup> (*Statistical Package for the Social Sciences*, Chicago, EUA).

## 5. RESULTADOS

### 5.1. Caracterização da população estudada

A **Tabela 3** a seguir refere-se às características clínicas e hábitos de vida dos pacientes com aterosclerose estudados, correspondendo a um total de 38 indivíduos por grupo. Identificou-se uma similaridade entre os grupos para as variáveis apresentadas na tabela, com exceção das doenças associadas e uso prévio de estatinas, cujos testes estatísticos demonstraram diferenças significantes entre os pacientes dos grupos. Observou-se que a idade média ficou em torno de 60 anos, variando de 41 a 82 anos, com predominância do gênero masculino, tanto no grupo suplementado quanto no placebo. Para ambos os grupos, o tabagismo esteve presente em mais de 70% dos pacientes, encontrando-se ainda cerca de 20% de ex-etilista. A hipertensão foi a doença associada mais frequente, correspondendo a 69% no grupo suplementado e 95% no grupo placebo. Ao exame angiográfico, identificou-se que mais de 50% dos pacientes apresentavam pelo menos 1 lesão aterosclerótica, sendo o ramo descendente anterior da coronária esquerda a artéria mais acometida com lesões que, na maioria dos casos, variavam entre 70% a 98% de estenose da luz do vaso. Quanto às medicações, as mais relatadas foram os inibidores da enzima conversora de angiotensina (ECA), beta-bloqueadores, vasodilatadores coronarianos, antipiréticos e inibidores de agregação plaquetária. Cerca de 50% dos pacientes do grupo suplementado afirmaram serem usuários da estatina sinvastatina (24% mais de 1 ano de uso), enquanto que este percentual no grupo placebo foi de 34%.

**Tabela 3** - Características clínicas e hábitos de vida dos pacientes dos grupos suplementados e placebo - Serviço de Hemodinâmica – NHC - Natal/RN.

VARIÁVEIS	Grupo Suplementado (n=38)	Grupo Placebo (n=38)	P*
Idade (anos)	61,7±9,1	62,8±9,8	0,61
<b>Gênero</b>			
Masculino	24(63%)	23(63%)	0,99
Feminino	14(37%)	15(37%)	
<b>Histórico de Tabagismo</b>			
Nunca fumou	9(24%)	10(26%)	0,36
Ex-fumante (Parou há <1 ano)	2(5%)	6(16%)	
Ex-fumante (Parou 1-10 anos)	10(26%)	11(29%)	
Ex-fumante (Parou há ≥10 anos)	17(45%)	11(29%)	
<b>Histórico de Etilismo</b>			
Nunca Bebeu	22(58%)	19(50%)	0,94
Ex-etilista	8(20%)	10(26%)	
Consumia álcool eventualmente	4(11%)	4(11%)	
Consome álcool eventualmente	4(11%)	5(13%)	
<b>Doenças Associadas</b>			
Nenhuma	10(26%)	2(5%)	0,02
Hipertensão arterial	20(53%)	28(74%)	
<i>Diabetes Mellitus</i> Tipo 2	2(5%)	0(0%)	
Hipertensão arterial+ <i>Diabetes Mellitus</i> Tipo 2	6(16%)	8(21%)	
<b>Nº de Lesões Ateroscleróticas ≥60%</b>			
1	20(53%)	18(47%)	0,94
2	12(32%)	12(32%)	
3	4(10%)	6(16%)	
≥4	2(5%)	2(5%)	
<b>Uso anterior de estatinas</b>			
Nunca	19(50%)	25(66%)	0,03
<6 meses	10(26%)	12(31%)	
≥1 ano	9(24%)	1(3%)	

\*Teste exato de Fisher

## 5.2. Avaliação Antropométrica

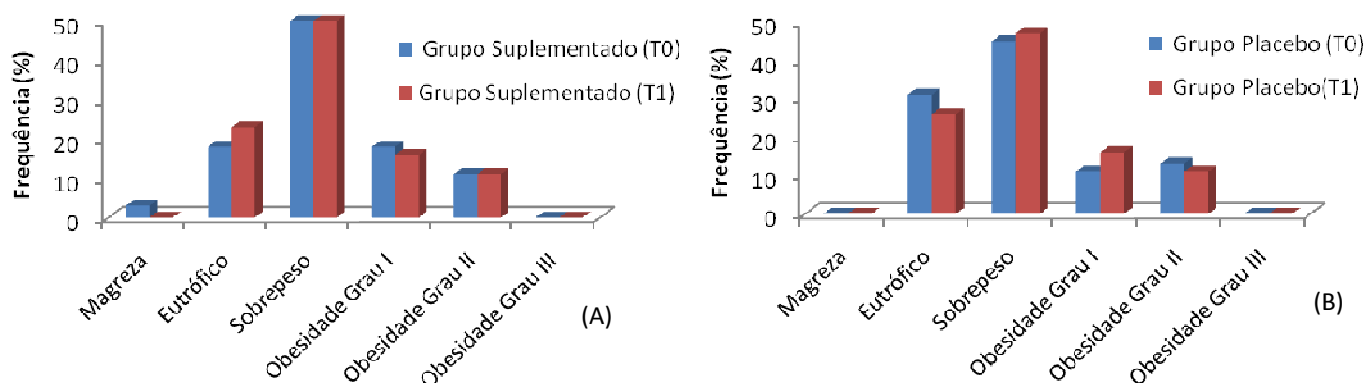
Ao avaliar os dados antropométricos dos pacientes (**Tabela 4, Figuras 8 e 9**), constatou-se que não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos, nem entre

os dois momentos do estudo, para todas as variáveis estudadas. Segundo o IMC, em torno de 80% dos pacientes do grupo suplementado apresentavam excesso de peso, com predomínio do sobrepeso em 50% dos pacientes. Para o grupo placebo, os percentuais de excesso de peso giraram em torno de 70%, encontrando-se 45% de sobrepeso. Quanto a circunferência abdominal, a maior parte dos pacientes de ambos os grupos foi classificada como em risco para o desenvolvimento de doenças associadas à obesidade.

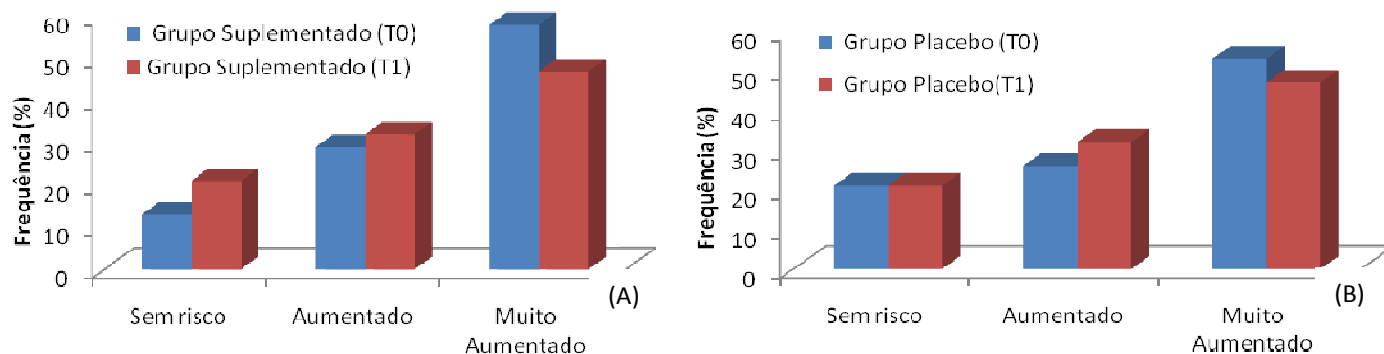
**Tabela 4** - Dados antropométricos dos pacientes dos grupos suplementado e placebo - Serviço de Hemodinâmica – NHC - Natal/RN

VARIÁVEIS	Grupo Suplementado (n=38)		Grupo Placebo (n=38)		$\Delta(\text{GS}^*) - \Delta(\text{GP}^*)$
	(T0)	(T1)	(T0)	(T1)	$\delta$ (IC 95%)
Peso (kg)	71,06±12,72	70,62±12,52	69,67±15,27	69,57±14,63	-0,33 (-1,47-0,81)
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	28,31±4,50	28,13±4,32	27,84± 4,65	27,82± 4,38	-0,15 (-0,60-0,31)
CA (cm)	98,82±10,90	97,4±10,95	97,92±9,91	97,48±10,51	-0,99 (-2,83-0,84)

\* GS = Grupo Suplementado; GP = Grupo Placebo



**Figura 8**- Classificação do IMC dos pacientes dos grupos suplementado (A) e placebo (B) - Serviço de Hemodinâmica – Natal Hospital Center - Natal/RN



**Figura 9** - Classificação da circunferência abdominal, dos pacientes dos grupos suplementado (A) e placebo (B) - Serviço de Hemodinâmica – NHC - Natal/RN

### 5.3. Avaliação Dietética

Os dados referentes à ingestão calórica e de macronutrientes dos pacientes indicam que não existe diferença estatisticamente significativa entre os grupos para nenhuma das variáveis estudadas (**Tabela 5**). Em uma análise individual, identificou-se que a maioria dos pacientes ingeriu quantidades de calorias inferiores ao recomendado (94% dos pacientes no grupo suplementado; 77% no grupo placebo). Houve predomínio das dietas hiperprotéicas, constatando-se ingestão acima da recomendação em 100% dos pacientes no grupo suplementado e 86% no grupo placebo. Cerca de 50% dos pacientes em ambos os grupos apresentaram ingestão de carboidratos dentro da faixa preconizada e ainda, percentuais expressivos de pacientes com ingestão abaixo do recomendado (40% no grupo suplementado e 31,5% no grupo placebo). Mais de 60% dos pacientes do grupo suplementado tiveram ingestão de gorduras totais abaixo do ideal, enquanto que no grupo placebo a ingestão de gorduras totais foi ideal em 46% destes (**Figura 10**).

Avaliando a distribuição dos ácidos graxos da dieta, quase a totalidade dos pacientes em ambos os grupos apresentaram ingestão de gordura polinsaturada e monoinsaturada dentro do percentual classificado como ideal. Já para a gordura saturada, ressalta-se que 71% dos pacientes do grupo placebo ultrapassaram o limite de ingestão recomendada, sendo este resultado de 26% no grupo suplementado. Para o colesterol dietético, 80% dos pacientes do grupo suplementado tiveram ingestão ideal, observando-se 43% no grupo placebo com valores de ingestão superiores a 200mg/d. A ingestão de fibra total foi insuficiente para quase todos os pacientes (**Figura 10**).

**Tabela 5** - Ingestão dietética de calorias e macronutrientes dos grupos de pacientes com aterosclerose - Serviço de Hemodinâmica – NHC - Natal/RN

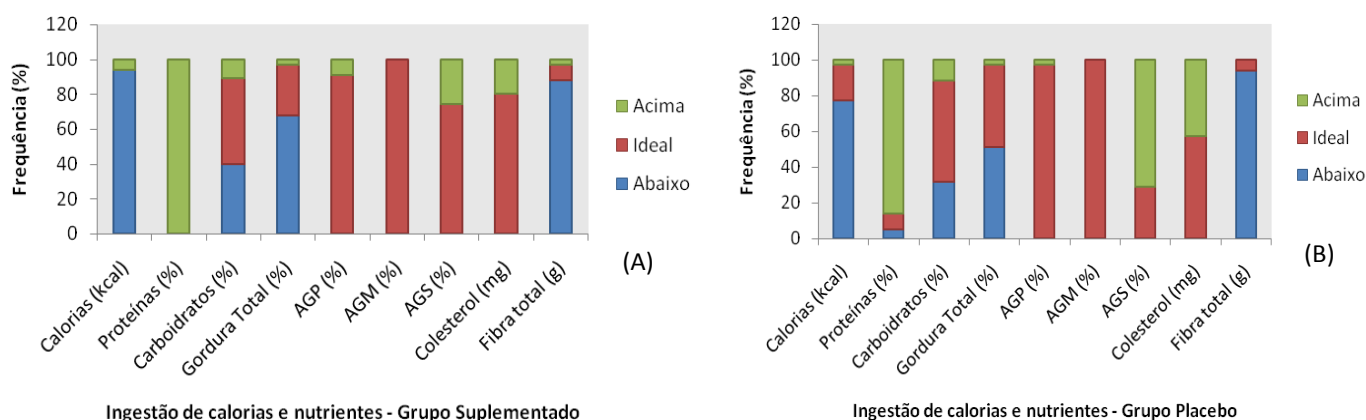
VARIÁVEIS	Grupo Suplementado (n=35*)	Grupo Placebo (n=35*)
Calorias (Bruto) (kcal/d)	1350,00±384,16	1458,21±454,65
Proteínas (Bruto) (%/d)	18,17±2,96	17,6±3,16
Proteínas (Ajustado) (%/d)	19,29±2,24	19,6±2,41
Carboidratos (Bruto) (%/d)	57,69±7,58	57,30±8,03
Carboidratos (Ajustado) (%/d)	56,96±6,36	56,87±6,79
Gorduras Totais (Bruto) (%/d)	24,14±6,00	24,94±6,25
Gorduras (Ajustado) (%/d)	25,03±4,86	25,38±5,20
Ácidos Graxos Polinsaturados (AGP)(Bruto) (%/d)	6,77±2,62	6,75±2,26
Ácidos Graxos Polinsaturados (AGP) (Ajustado) (%/d)	7,49±2,00	7,43±1,68
Ácidos Graxos Monoinsaturados (AGM) (Bruto) (%/d)	7,22±2,32	7,41±2,21
Ácidos Graxos Monoinsaturados (AGM)(Ajustado) (%/d)	7,35±1,81	7,41±1,81
Ácidos Graxos Saturados (AGS) (Bruto) (%/d)	6,96±2,08	7,36±2,14
Ácidos Graxos Saturados (AGS) (Ajustado) (%/d)	6,64±1,44	6,83±1,65
Colesterol (Bruto) (mg/d)	174,65±77,97	198,60±130,92
Colesterol (Ajustado) (mg/d)	183,52±51,36	189,52±83,48
Fibra total (Bruto) (g/d)	14,81±5,43	14,51±5,80
Fibra total (Ajustado) (g/d)	15,03±3,39	14,11±3,96

\* "n" diferente de 38, pois foram excluídos os registros de 3 pacientes por apresentarem ingestão calórica menor que 500 kcal ou acima de 6.000kcal, segundo Andrade *et al* (2003).

#### Recomendações de Nutrientes:

- Calorias (FNB-IOM, 2005)
- Proteínas (SBC, 2007) = Cerca de 15% das calorias ingeridas
- Carboidratos (SBC, 2007) = 50-60% das calorias ingeridas
- Gorduras totais (SBC, 2007) = 25-35% das calorias ingeridas

- AGP (SBC, 2007) = ≤10% das calorias ingeridas
- AGM (SBC, 2007) = ≤20% das calorias ingeridas
- AGS (SBC, 2007) = < 7% das calorias ingeridas
- Colesterol (SBC, 2007) = <200mg
- Fibra total (SBC, 2007) = 20-30g



**Figura 10** - Ingestão de calorias e macronutrientes dos pacientes dos grupos suplementado (A) e placebo (B)- Serviço de Hemodinâmica – NHC - Natal/RN



Analisando a ingestão total de zinco e selênio (dieta + suplementação) para o grupo suplementado e placebo, evidencia-se que o consumo destes minerais não ultrapassou os limites máximos toleráveis (**Tabela 6**). Identificou-se 60% de inadequação de ingestão de selênio no grupo placebo, considerando os valores ajustados pela variabilidade intra e interpessoal e energia (**Figura 11**). Na avaliação da ingestão de zinco, a amostra foi subdividida por gênero, tendo em vista as recomendações diferenciadas. Os resultados do grupo placebo demonstraram que independentemente do gênero, as prevalências de inadequação de zinco foram acima de 90% para os valores ajustados (**Figura 12**).

**Tabela 6** - Ingestão dietética de zinco e selênio dos pacientes dos grupos suplementado e placebo, atendidos no Serviço de Hemodinâmica – NHC - Natal/RN.

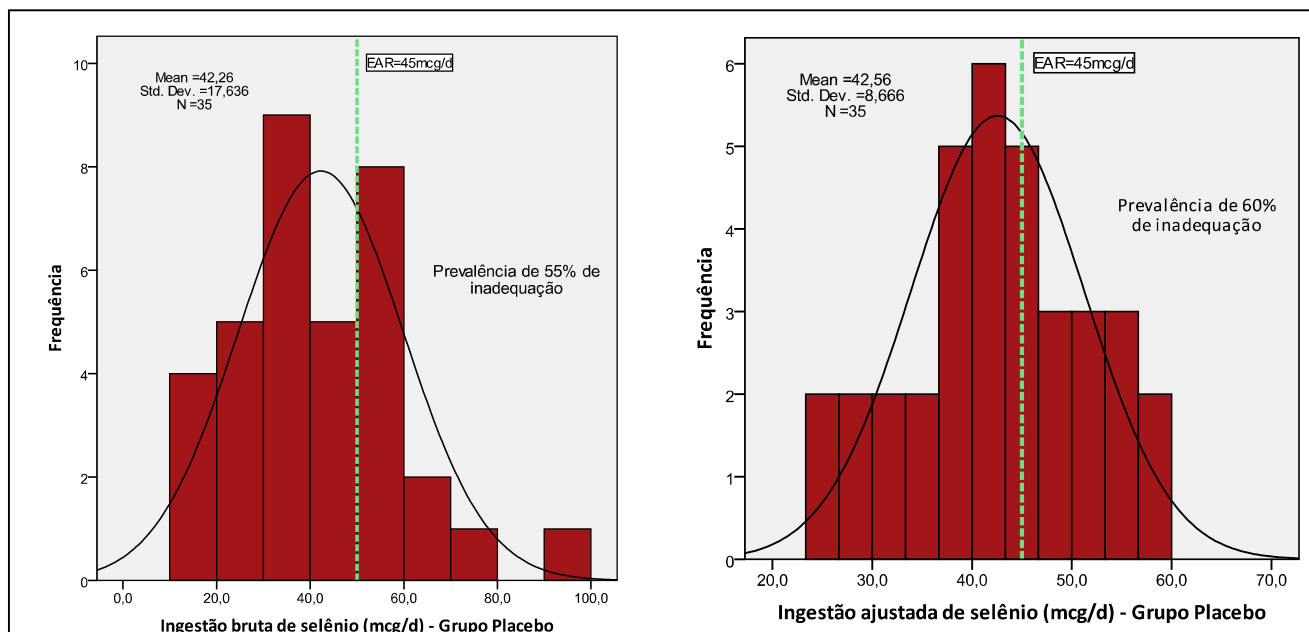
VARIÁVEIS	Grupo Suplementado (n=35*)	Grupo Placebo (n=35*)
Selênio (Bruto) (µg/d)	41,78±22,12	42,26±17,63
Selênio (Bruto) + suplemento(150 µg) (µg/d)	191,78±22,12	-
Selênio (Ajustado) (µg/d)	42,19±15,70	42,56±8,67
Selênio (Ajustado) + suplemento (150 µg) (µg/d)	192,19±15,70	-
Zinco (Bruto) (mg/d)	6,47±2,24	6,85±2,16
Masculino	7,42±2,03	7,76±2,04
Feminino	4,39±0,84	5,12±1,06
Zinco (Bruto) + suplemento (30mg)(mg/d)	36,47±2,24	-
Masculino	37,42±2,03	-
Feminino	34,39±0,84	-
Zinco (Ajustado) (mg/d)	6,97±0,98	6,94±0,86
Masculino	7,20±1,07	6,52±0,81
Feminino	6,46±0,44	5,98±0,42
Zinco (Ajustado) + suplemento (30mg) (mg/d)	36,97±0,98	-
Masculino	37,20±1,07	-
Feminino	36,46±0,44	-

\* “n” diferente de 38, pois foram excluídos os registros de 3 pacientes por apresentarem ingestão calórica menor que 500 kcal ou acima de 6.000kcal, segundo Andrade *et al* (2003).

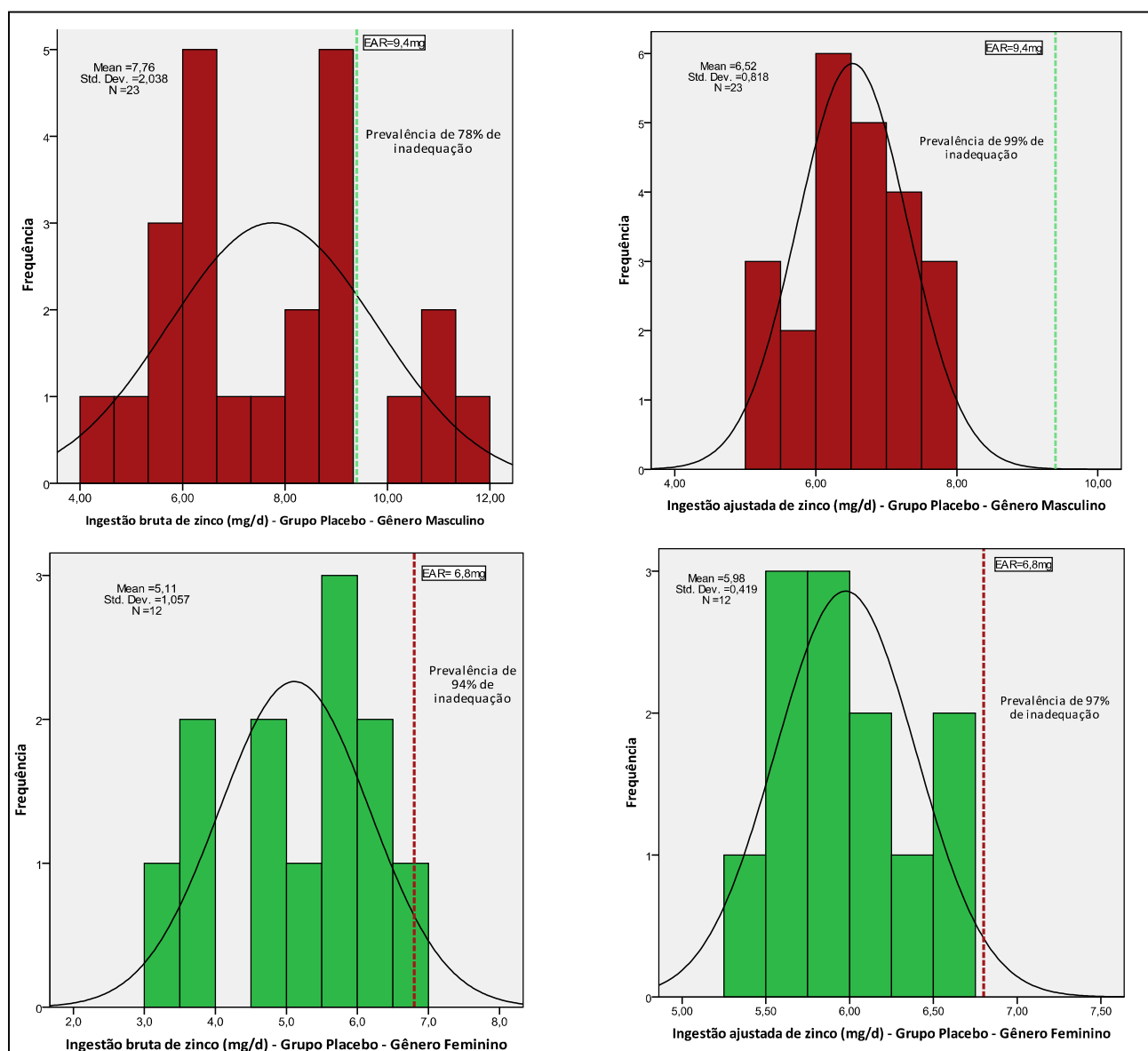
**Recomendações de Nutrientes:**

Zinco (FNB-IOM,2001): EAR=9,4mg/d(homens); 6,8mg/d(mulheres)

Selênio (FNB-IOM,2000): EAR=45µg/d



**Figura 11** - Prevalência de inadequação de selênio considerando os valores de ingestão bruta e ajustada dos pacientes do **grupo placebo** - Serviço de Hemodinâmica – NHC - Natal/RN



**Figura 12** - Prevalência de inadequação de zinco considerando os valores de ingestão bruta e ajustada dos pacientes do **grupo placebo** distribuídos por gênero - Serviço de Hemodinâmica – NHC - Natal/RN

#### 5.4. Avaliação da Glicemia, Perfil Lipídico e Função Hepática

Os resultados da glicemia de jejum demonstraram que os valores médios estiveram acima da faixa de normalidade para ambos os grupos, observando-se que houve uma diminuição estatisticamente significativa desta variável no grupo placebo após a intervenção (T1). Dentre as variáveis do perfil lipídico, constatou-se diminuição estatisticamente significativa nas concentrações de colesterol total, LDL e colesterol não-HDL, tanto no grupo suplementado, quanto no placebo, enfatizando o efeito positivo da rosuvastatina sobre estas variáveis, independente da suplementação.

As alterações do perfil lipídico mais marcantes foram os baixos valores da HDL, cujas concentrações não foram alteradas diante das intervenções. Após o tratamento, as concentrações de triacilgliceróis diminuíram em ambos os grupos, porém somente no grupo placebo os resultados foram estatisticamente significantes. As enzimas hepáticas não apresentaram alteração em decorrência do uso da rosuvastatina ou suplementação (**Tabela 7**).

Os modelos de regressão linear múltipla sugeriram que a resposta para o decréscimo do colesterol total, LDL e colesterol não-HDL é influenciada pelo gênero, destacando-se melhores resultados para o gênero feminino. Quanto aos triacilgliceróis, os mesmos modelos de regressão indicam que esta variável é influenciada de modo significativo pelo IMC ( $p=0,02$ ) e colesterol dietético ( $p=0,01$ ). Esses valores de resposta preditos, novamente reforçaram a ausência de diferença entre o grupo que recebeu suplementação do grupo placebo.

**Tabela 7** – Glicemia de jejum, perfil lipídico e função hepática dos pacientes dos grupos suplementado e placebo - Serviço de Hemodinâmica – NHC - Natal/RN

VARIÁVEIS	Grupo Suplementado (n=38)		P	Grupo Placebo (n=38)		P	$\Delta$ (GS*)– $\Delta$ (GP*) $\delta$ (IC 95%)
	(T0)	(T1)		(T0)	(T1)		
Glicemia de jejum (mg/dL)	116,0 ±32,8	111,3±29,5	0,46	125,0±52,8 <sup>a</sup>	112,0±44,5 <sup>b</sup>	0,0007	8,42 (-5,6-22,5)
Colesterol total (mg/dL)	177,5 <sup>a</sup> (150-215)	139,0 <sup>b</sup> (122-159)	0,0005	179,5 <sup>a</sup> (155-219)	139,0 <sup>b</sup> (115-174)	0,0005	5,87 (-16,2-27,9)
LDL (mg/dL) <sup>(¥)</sup>	97,6 <sup>a</sup> (69-132)	63,6 <sup>b</sup> (49-80,6)	0,0012	105,8 <sup>a</sup> (84-150)	69,8 <sup>b</sup> (56-89,4)	0,003	6,54 (-13,5-26,5)
HDL (mg/dL)	38,0 (32-46)	37,5 (33-45)	0,39	36,0 (31-44)	36,5 (32-44)	0,19	-1,13 (-4,8-2,5)
Triacilgliceróis (mg/dL)	160,5 (112-276)	129,0 (103-205)	0,07	169 <sup>a</sup> (116-221)	130 <sup>b</sup> (93-178)	0,034	19,13 (-27,1-65,4)
Colesterol não-HDL (mg/dL)	143 <sup>a</sup> (112-176)	102 <sup>b</sup> (77-113)	0,0005	145 <sup>a</sup> (120-176)	100 <sup>b</sup> (78-129)	0,0001	7,0 (-14,3-28,3)
ALT (U/L)	22 (15-29)	24 (18-32)	0,74	22 (16-30)	24 (17-35)	0,41	-0,11 (-6,2-6,0)
AST(U/L)	19,5 (16-25)	20,5 (17-26)	0,41	18,5 (16-25)	19 (17-27)	0,87	0,00 (-4,53-4,53)

\* GS = Grupo Suplementado; GP = Grupo Placebo

Nas linhas, letras diferentes correspondem a médias ou medianas diferentes pelo teste *t-Student* e o teste não-paramétrico de *Wilcoxon*, respectivamente

¥ n=37 – 01 paciente em cada grupo apresentando valores de triacilgliceróis >400mg/dL, inviabilizando o cálculo da LDL.

#### Valores de referência:

- Glicemia de jejum: normal <100mg/dL (SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES (SBD), 2007)

- Perfil Lipídico – (SBC, 2001)

**Colesterol Total:** ótimo =<200mg/dL; limítrofe= 200-239mg/dL; alto= ≥240mg/dL ; **HDL:** baixo= <40mg/dL (homens), <50mg/dL (mulheres); alto=60mg/dL; **LDL:** ótimo=<100mg/dL; desejável= 100-129mg/dL; limítrofe = 130-159mg/dL; alto= 160-189mg/dL; muito alto= ≥190mg/dL,

**Triacilgliceróis:** ótimo=<150mg/dL; limítrofe=150-200mg/dL; alto= 201-499mg/dL; muito alto= ≥500mg/dL

**Enzimas Hepáticas – (Kit Olympus®)**

- ALT: 7-52 U/L; AST: 13-39 U/L

## 5.5. Avaliação do Status de Zinco e Selênio

Não foram constatadas diferenças estatisticamente significantes para as concentrações de zinco e selênio no plasma e eritrócitos entre os tempos do estudo em ambos os grupos avaliados, demonstrando que a terapia com a rosuvastatina associada ou não a suplementação de zinco e selênio, não influenciou no *status* destes minerais, considerando o tempo do tratamento e as dosagens prescritas (**Tabela 8**).

Apesar de não termos valores de referência específicos das concentrações de zinco plasmático e eritrocitário para a população brasileira, e da grande variabilidade entre diferentes grupos populacionais, comparando-se as medianas destes biomarcadores com os valores de referência propostos por Gibson (1990), observou-se uma tendência a resultados maiores de zinco eritrocitário, enquanto que o plasmático permaneceu dentro da faixa estabelecida. Uma análise individualizada permitiu identificar que 39% dos pacientes do grupo suplementado apresentaram valores de zinco eritrocitário deficiente no primeiro

momento do estudo (T0), percentual que foi reduzido para 33% após a intervenção (T1). Para o grupo placebo o comportamento foi inverso, uma vez que inicialmente o percentual de valores baixos de zinco no eritrócito passou de 30,5% no T0 para 39% no T1.

**Tabela 8** - Concentrações de zinco e selênio no plasma e eritrócito dos pacientes dos grupos suplementado e placebo - Serviço de Hemodinâmica – NHC - Natal/RN

VARIÁVEIS	Grupo Suplementado (n=38)		P	Grupo Placebo <sup>(¥)</sup> (n=38)		P	$\Delta(\text{GS}^*) - \Delta(\text{GP}^*)$ $\delta$ (IC 95%)
	(T0)	(T1)		(T0)	(T1)		
Zinco Plasmático ( $\mu\text{g/dL}$ )	84,0 (70,8-101,8)	90,0 (75,4-101,5)	0,14	77,0 (67,3-95,0)	82,4 (72,4-98,2)	0,99	1,39 (-7,7-10,5)
Zinco Eritrocitário ( $\mu\text{g/g Hb}$ )	52,5 (41,1-62,1)	50,8 (41,9-57,5)	0,14	49,2 (42,7-57,9)	50,1 (40,8-59,2)	0,99	-1,83 (-7,0-3,3)
Selênio Plasmático ( $\mu\text{g/L}$ )	68,0 (59,9-78,8)	70,6 (59,8-76,2)	0,87	63,0 (52,1-70,0)	61,9 (56,1-71,6)	0,63	-0,14 (-4,6-4,3)
Selênio Eritrocitário ( $\mu\text{g/L}$ )	104,1 (89,2-139)	111,8 (99,2-148)	0,07	106 (89,6-129,8)	114,7 (85-136,6)	0,99	-1,97 (-14,9-10,9)

\* GS = Grupo Suplementado; GP = Grupo Placebo

¥ n=36 para o zinco plasmático e eritrocitário– 02 pacientes tiveram problemas com o tubo de sangue do zinco durante a coleta no T0 (coagulou).

**Valores de Referência:**

**Zinco (GIBSON, 1990)**

-Plasma: 70-110 $\mu\text{g/dL}$

-Eritrócito: 40-44  $\mu\text{g/g Hb}$

**Selênio (ORTUÑO *et al*, 1997)**

-Plasma: 60-120 $\mu\text{g/L}$

-Eritrócito: 90-190  $\mu\text{g/L}$

### 5.6. Avaliação da LDL(-), Ac Anti LDL(-) e Imunocomplexos Ac-LDL(-) e enzimas antioxidantes

No tocante à avaliação da LDL(-), evidenciou-se diferença estatisticamente significante nas concentrações entre os grupos suplementado e placebo no primeiro momento do estudo (T0), verificando-se menores resultados para o grupo suplementado. Mesmo diante deste fato, as concentrações de Ac Anti LDL(-) e Imunocomplexos Ac-LDL(-) permaneceram semelhantes. A terapia com a rosuvastatina associada ou não à suplementação com minerais antioxidantes, não alterou significativamente as concentrações de LDL(-), Ac Anti LDL(-) e Imunocomplexos Ac-LDL(-) dos pacientes estudados (**Tabela 9**).

Acompanhando estes resultados, a atividade das enzimas antioxidantes SOD e GPx também não foram diferentes significativamente entre os grupos antes (T0) e após (T1) as intervenções. Observou-se que os valores medianos de atividades destas enzimas apresentados pelos pacientes em ambos os grupos nos 2 momentos do estudo, estiveram dentro dos pontos

de corte indicado pelo kit utilizado para análise, ou seja, 27-5 – 73,6 U<sub>g</sub>/Hb para GPx e 1102-1601 U<sub>g</sub>/Hb para a SOD (**Tabela 9**).

**Tabela 9** - Concentrações de LDL(-), Ac Anti LDL(-) e Imunocomplexos Ac-LDL(-) e atividade da SOD e GPx dos grupos suplementado e placebo - Serviço de Hemodinâmica – NHC - Natal/RN

VARIÁVEIS	Grupo Suplementado (n=38)		P	Grupo Placebo (n=38)		P	Δ(GS*)– Δ(GP*)
	(T0)	(T1)		(T0)	(T1)		δ (IC 95%)
LDL(-) (U/L)	0,18 <sup>a</sup> (0,10-0,48)	0,17 (0,10-0,55)	0,41	0,48 <sup>b</sup> (0,19-0,91)	0,52 (0,22-0,86)	0,16	-0,04 (-0,16-0,08)
Ac Anti-LDL (-) (mg/dL)	0,35 (0,28-0,59)	0,36 (0,25-0,56)	0,32	0,37 (0,23-0,66)	0,35 (0,24-0,64)	0,73	-0,01 (-0,06-0,04)
Imunocomplexos Ac-LDL(-) (g/L)	2,32 (1,66-5,27)	2,59 (1,79-5,18)	0,87	2,50 (1,59-4,58)	2,89 (1,75-4,16)	0,63	-0,08 (-1,09-0,93)
SOD (U g/Hb)	1397 (1104-1694)	1331 (1112-1613)	0,87	1342 (1222-1681)	1440 (1303-1661)	0,42	-126,3 (-1541,8-1217,2)
GPx (U g/Hb)	43 (33,1-54)	41,9 (35,9-56,3)	0,87	40,8 (34,9-47,6)	44 (36,2-54,2)	0,87	-1,05 (-6,0-3,9)

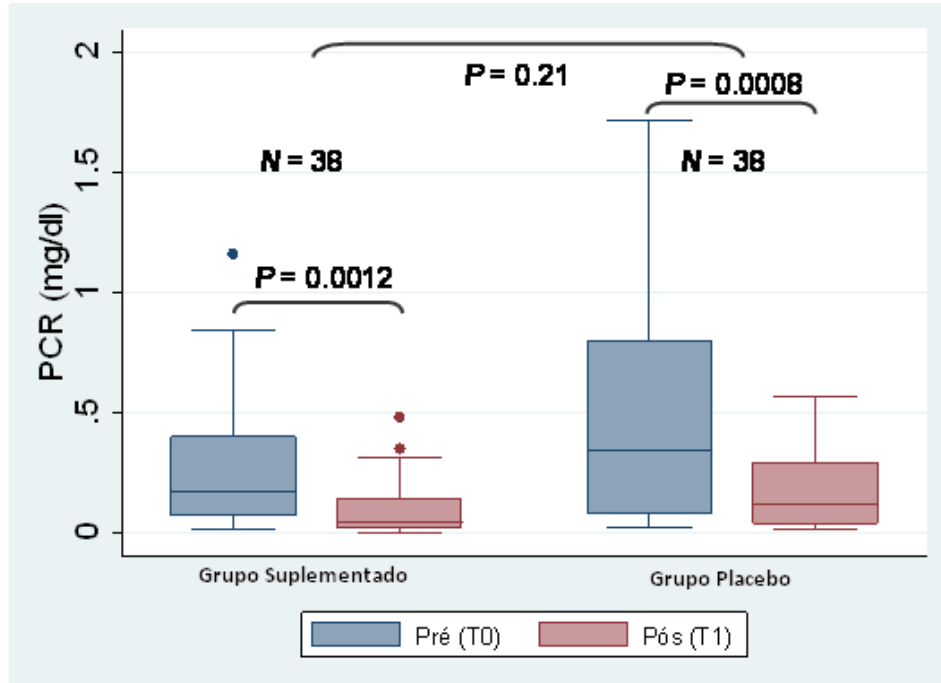
\* GS = Grupo Suplementado; GP = Grupo Placebo

Nas linhas, letras diferentes correspondem a medianas diferentes pelo teste não-paramétrico de *Wilcoxon* (ab=p<0,02)

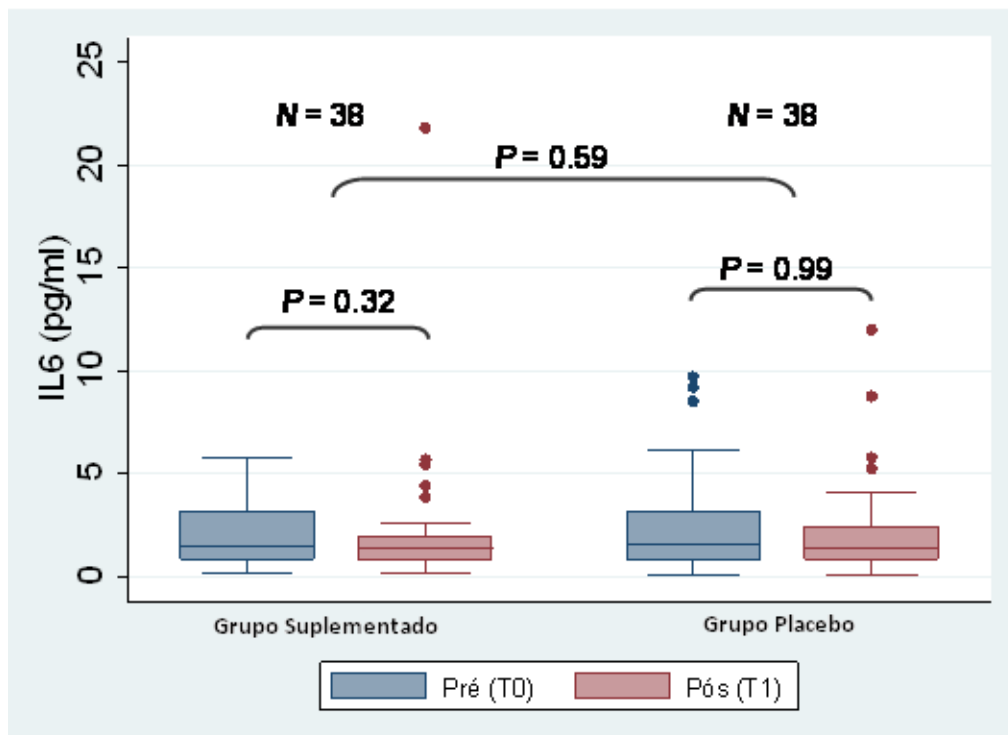
### 5.7. Avaliação dos marcadores de inflamação

A **Figura 13** representa os resultados de PCR-as dos pacientes distribuídos por grupo suplementado e placebo. Os valores basais de PCR-as foram significativamente menores no grupo suplementado em relação ao placebo (p=0,03). Após as intervenções, as concentrações séricas desta variável foram diminuídas significativamente em ambos os grupos, confirmando o efeito benéfico independente da rosuvastatina no controle deste importante marcador de inflamação.

Diferentemente, as concentrações de IL-6 no momento inicial (T0) foram semelhantes entre os grupos, evidenciando-se menores resultados em ambos os grupos após as intervenções (T1) com rosuvastatina associada ou não à suplementação, porém sem significância estatística (**Figura 14**).



**Figura 13** - Concentrações de PCR-as dos pacientes dos grupos suplementado e placebo - Serviço de Hemodinâmica – NHC - Natal/RN



**Figura 14** - Concentrações de IL-6 dos pacientes dos grupos suplementado e placebo - Serviço de Hemodinâmica – NHC - Natal/RN

## 6. DISCUSSÃO

### 6.1. Caracterização da população estudada: avaliação antropométrica, dietética e do perfil lipídico

Analisando as características clínicas e hábitos de vida dos pacientes com aterosclerose estudados (**Tabela 3**), confirmou-se a presença de vários fatores de risco, como idade média acima de 60 anos, maior percentual de indivíduos do sexo masculino, ex-tabagistas, portadores de hipertensão arterial e diabetes *mellitus*. Destaca-se que no grupo placebo foi detectado um percentual maior de hipertensos em relação ao grupo suplementado. Resultado semelhante foi obtido por Pereira, Barreto e Passos (2008) com uma população brasileira de 3.142 idosos, dos quais cerca de 50% referiram hipertensão e 18% diabetes *mellitus*.

Em idosos residentes na cidade de São Paulo foi constatado que os riscos para o desenvolvimento da aterosclerose aumentam com a idade, de modo que a cada dez anos há uma possibilidade de aumentar em 2,5 vezes a mortalidade por essas doenças. A magnitude dos fatores de risco e a ocorrência de manifestações clínicas aparecem mais tardiamente em mulheres do que em homens. Os indivíduos mais susceptíveis para esta doença são os que apresentam diabetes *mellitus*, hipertensão arterial, fumantes e dislipidêmicos. A história familiar de doenças cardiovasculares em homens com idade inferior a 55 anos e mulheres com 65 anos, inatividade física, estresse, depressão, dieta e obesidade, também estão claramente associadas com maior risco de doença coronária (ALENCAR *et al*, 2000).

Em se tratando do número de lesões, cerca da metade dos pacientes em ambos os grupos tiveram diagnóstico recente de aterosclerose, apresentando 1 lesão aterosclerótica acima de 60% de estenose. O uso anterior de estatinas foi confirmado em 50% dos pacientes do grupo suplementado, sendo este percentual diferente estatisticamente dos 34% do grupo placebo.

Estudos comprovam a importância do início do tratamento precoce com estatinas em pacientes com aterosclerose candidatos à angioplastia coronariana percutânea. As evidências indicam que o uso destes fármacos pode diminuir a incidência de necrose do miocárdio pós-angioplastia, bem como maiores eventos cardiovasculares adversos. Os resultados são independentes da diminuição da LDL e PCR, e são atribuídos, em parte, aos efeitos pleiotrópicos das estatinas (CAHOON; CROUCH, 2007; GIBSON *et al*, 2009).



### 6.1.1. Avaliação Antropométrica

Considerando os resultados da classificação do IMC, observou-se maior percentual de pacientes classificados com sobrepeso/obesidade em ambos os grupos suplementado e placebo (**Figura 8A e 8B**). Semelhantemente, Colombo *et al* (2003) estudando 43 pacientes infartados, encontraram IMC médio de  $26,9 \pm 0,5 \text{ kg/m}^2$ , além de 69,7% dos pacientes com sobrepeso/obesidade. A obesidade está frequentemente associada à hipertensão arterial, aumentando o risco de perturbações metabólicas incluindo resistência insulina, hipertrigliceridemia e baixa concentração de HDL. O excesso de peso corporal pode ainda resultar em mudanças nos lipídios plasmáticos e lipoproteínas, caracterizadas pelo aumento das partículas de LDL pequenas e densas e diminuições da HDL, potencializando o risco para o desenvolvimento da aterosclerose (MATHIEU; PIBAROT; DESPRÉS, 2006).

Pesquisadores têm recomendado a medida isolada da circunferência abdominal para avaliação de risco cardiovascular, já que a mesma independe da altura, correlaciona-se fortemente com o IMC e parece predizer melhor o tecido adiposo visceral (DOBBELSTEYN *et al*, 2001; REZENDE *et al*, 2006). A avaliação da circunferência abdominal dos pacientes do nosso estudo revelou um dado preocupante, já que a maior parte dos pacientes apresentava risco aumentado ou muito aumentado para o desenvolvimento de doenças associadas à obesidade (**Figura 9A e 9B**).

Em um estudo cuja amostra foi composta por 151 indivíduos de 26 a 84 anos portadores de doença cardiovascular, observou-se também percentuais de sobrepeso de 50% e obesidade de 21,3%, estando a circunferência abdominal aumentada presente em 30,8% dos indivíduos (BOPP; BARBIERO, 2009). Por outro lado, Tarastchuk *et al* (2008) acompanhando 308 pacientes com características de idade e sexo semelhantes a da nossa população, portadores de aterosclerose submetidos à angioplastia coronária percutânea com uso de *stent* convencional, observaram que a circunferência abdominal alterada desponta como um preditor independente para a ocorrência de complicações após a intervenção no subgrupo masculino. Já o IMC não esteve relacionado com melhor ou pior evolução clínica após angioplastia.

### 6.1.2. Avaliação Dietética

Em se tratando do consumo alimentar dos pacientes, comparando-se individualmente a ingestão de energia com a estimativa de energia necessária, calculado segundo as fórmulas estimativas de energia propostas pelo FNB-IOM (2005) que determina o balanço energético a partir da idade, sexo, peso, altura, e o nível de atividade física, percebeu-se que a maioria dos pacientes avaliados apresenta ingestão abaixo recomendado (**Figura 10A e 10B**). Apesar de no decorrer do estudo os pacientes não terem sido submetidos a um tratamento de intervenção dietética e do método de avaliação empregado (Recordatório de 24h) indicar a dieta habitual dos pacientes nos 4 meses do estudo, percebe-se, durante as entrevistas, que a dieta atual não era uma realidade antes do diagnóstico e da angioplastia. Após o procedimento, os pacientes tenderam a adotar novos hábitos com receio de recidivas. Provavelmente esta seja a justificativa para o contraste entre a ingestão calórica atual e os elevados percentuais de sobrepeso/obesidade.

Avaliando individualmente os percentuais de ingestão de proteínas, percebeu-se que a grande maioria dos pacientes apresentava dieta classificada como hiperprotéica, resultante de um consumo de carne bovina, frango, peixe, queijo, leite e feijão. Quanto à ingestão de carboidratos, verificou-se maior contingente de pacientes com ingestão entre 50-60% do valor calórico total, registrando-se baixo consumo de alimentos integrais e um alto consumo de arroz branco, cuscuz, pão francês, biscoito cream cracker, açúcar e tapioca (**Figura 10A e 10B**).

Dietas restritas em carboidratos resultaram em diminuição da ingestão calórica em 93% dos indivíduos e efeitos favoráveis sobre biomarcadores importantes para doenças cardiovasculares, tais como: redução significativa de lipoproteínas plasmáticas e dos marcadores inflamatórios PCR e TNF- $\alpha$  (WOOD *et al*, 2006). Outro estudo que avaliou os efeitos de uma dieta composta por 26% de carboidratos em homens confirmou uma diminuição nas concentrações plasmáticas de triacilgliceróis e apolipoproteína B, bem como da LDL, quando associada a uma dieta com menor teor de gordura saturada (KRAUSS *et al*, 2006).

Dentre os macronutrientes, os lipídios são os mais estudados quanto ao efeito dos componentes da dieta na inflamação. Sugere-se que uma única refeição com alto conteúdo de lipídios leve à ativação endotelial, que é evidenciada pelas elevadas concentrações de moléculas de adesão VCAM-1 e ICAM-1, em associação ao aumento das concentrações plasmáticas de IL-6 e TNF- $\alpha$ . Além disso, esta mesma refeição rica em gordura pode elevar

as concentrações de IL-18, associada à redução simultânea da adiponectina (GERALDO;ALFENAS, 2008).

Quanto à ingestão de gorduras totais, apesar das evidências apontarem para um maior consumo, verificaram-se altos percentuais de pacientes com dietas classificadas como abaixo ou ideal. Ressalta-se que para a distribuição dos ácidos graxos que compõem a dieta, todos os pacientes não ultrapassaram 20% das calorias totais para os monoinsaturados, enquanto que o polinsaturados, os percentuais ficaram dentro da faixa em quase a totalidade dos pacientes, em ambos os grupos. Dado importante foi relacionado à gordura saturada, uma vez que mais de 70% dos pacientes do grupo placebo apresentaram valores acima do recomendado, contra 26% do grupo suplementado. A maioria dos pacientes apresentou ingestão de colesterol adequada e baixa ingestão de fibra (**Figura 10A e 10B**).

Os ácidos graxos saturados, com exceção do ácido esteárico, aumentam os níveis séricos de todas as lipoproteínas, principalmente a LDL, uma vez que reduzem a síntese e a atividade dos receptores de LDL pela diminuição da expressão do RNAm e da fluidez da membrana, dificultando a depuração na circulação. Portanto, a ingestão de gordura saturada é sugerida como a principal causa alimentar da hipercolesterolemia (SIGNORI *et al*, 2007). A substituição isocalórica dos ácidos graxos saturados por ácidos graxos polinsaturados reduz o colesterol total e o LDL plasmático. Entretanto, no período pós-prandial as gorduras polinsaturadas podem ser tão prejudiciais ao endotélio vascular como as gorduras saturadas. As gorduras polinsaturadas da série  $\omega$ -6, além de reduzirem a LDL, reduzem também a HDL, induzindo maior oxidação lipídica, quando os efeitos praticamente se neutralizam (KULLER, 2006). Já a ingestão de ácidos graxos da série  $\omega$ -3 determina um decréscimo nos eventos cardíacos. Já as gorduras monoinsaturadas são apresentadas como tão efetivas na redução do colesterol plasmático quanto as polinsaturadas, entretanto sem provocar a oxidação lipídica e a diminuição nas concentrações de HDL (SIGNORI *et al*, 2007).

As restrições de determinadas fontes alimentares, principalmente os alimentos de origem animal, em pacientes com aterosclerose e hipertensão, provavelmente expliquem os altos percentuais de inadequação encontrados para a ingestão de selênio (**Figura 11**) e de zinco (**Figura 12**), embora em menores proporções, mas significantes. Confirmando parcialmente os nossos resultados, 130 pacientes saudáveis com aterosclerose apresentaram ingestão de selênio semelhante ( $42,38 \pm 1,6 \mu\text{g}/\text{dia}$ ), embora o consumo de zinco tenha sido maior ( $9,44 \pm 0,2 \text{mg}/\text{dia}$ ) (ALISSA *et al*, 2006). Em idosos observaram-se que a ingestão de selênio adequada poderia ser atribuída ao alto consumo de carnes, peixes, crustáceos e produtos lácteos (GONZÁLEZ *et al*, 2006). No nosso estudo registramos poucos relatos de

consumo de peixe, crustáceos, castanhas do Brasil e caju, fontes importantes de selênio. Combs-Jr (2001) discute sobre as dificuldades para a avaliação alimentar de selênio, considerando as variações deste mineral nos solos de diferentes regiões, associadas às limitações de informações nutricionais em tabelas de composição de alimentos brasileiros.

Os poucos dados publicados sobre consumo de selênio nos diversos estados brasileiros demonstram uma grande disparidade, podendo ser considerado de baixo a adequado dependendo de cada região e faixa de renda considerada. Estudos demonstram que a ingestão de selênio pode variar de 18µg/dia em São Paulo, 19µg/dia em Mato Grosso, 94,5µg/dia em Manaus, chegando até 139µg/dia em grupos de maior poder aquisitivo de Santa Catarina (GONZAGA; MARTENS; COZZOLINO, 2005).

Em relação ao consumo de zinco, 99,8% dos adultos e idosos da cidade de Bambuí em Minas Gerais apresentavam consumo inadequado de zinco, confirmando a grande deficiência dietética deste nutriente na alimentação brasileira (LOPES *et al*, 2005). Por outro lado, percentuais menores de inadequação (54,4%) foram encontrados em pacientes com síndrome metabólica atendidos em uma Unidade Básica do Rio de Janeiro (FERNANDES *et al*, 2007).

### 6.1.3. Perfil lipídico

Confirmando os resultados dos estudos publicados sobre os efeitos da rosuvastatina no perfil lipídico, verificou-se redução significativa do colesterol total, LDL, colesterol não-HDL tanto no grupo placebo, quanto no suplementado (**Tabela 7**), após o uso do fármaco na dosagem 10mg, durante 4 meses. A diminuição das concentrações de triacilgliceróis somente foi estatisticamente confirmada no grupo placebo, apesar dos valores também serem reduzidos no grupo suplementado, porém sem significância estatística. Não foram verificadas alterações para a HDL e as enzimas hepáticas ALT e AST.

O estudo MERCURY II (*Measuring Effective Reductions in Cholesterol, Using Rosuvastatin*) conduzido em pacientes com alto risco cardiovascular tratados durante 6 semanas com atorvastatina, sinvastatina e rosuvastatina, demonstrou que o grupo rosuvastatina apresentou valores de colesterol não-HDL e da apolipoproteína B mais baixos (BALLANTYNE *et al*, 2008<sup>a</sup>). Outro estudo clínico, STELLAR (*Statin Therapies for Elevated Lipid Levels compared Across doses to Rosuvastatin*), que acompanhou 2268 pacientes, também resultou em melhores efeitos da rosuvastatina sobre a diminuição dos triacilgliceróis, LDL e aumento da HDL, em comparação com a atorvastatina (DEEDWANIA *et al*, 2005). Gómez-García *et al* (2007) encontraram que o tratamento com rosuvastatina

(10mg/dia) por 3 meses reduziu os valores de colesterol total, triacilgliceróis, LDL, aumentou moderadamente o HDL e também diminuiu os marcadores de inflamação e estresse oxidativo.

No nosso estudo, provavelmente a inalteração das concentrações de HDL pode ser atribuída ao fato da maioria dos pacientes não realizarem atividade física associada a uma dieta com baixa ingestão de alimentos ricos em gordura monoinstaurada, diferentemente do que ocorre em outros países onde existe um maior acesso a uma alimentação mais equilibrada.

Mais recentemente, o estudo denominado JUPITER (*Justification for the Use of Statins in Primary Prevention: An Intervention Trial Evaluating Rosuvastatin*) demonstrou que, em se tratando de prevenção primária, o tratamento de pacientes aparentemente saudáveis com estatinas, reduz em cerca de 50% os riscos de morbidade e mortalidade por doenças cardiovasculares. A pesquisa verificou que pacientes com baixas concentrações de LDL, porém, com níveis de PCR  $\geq 2$  mg/L, que foram tratados com rosuvastatina, tiveram redução significativa dos eventos cardiovasculares (RIDKER *et al*, 2009). A efetividade da rosuvastatina sobre a diminuição da PCR também foi comprovada por meio do estudo ANDROMEDA (*A randomized, Double-blind, double-dummy, multicenter, phase IIIb parallel-group study to compare the efficacy and safety of Rosuvastatin (10 mg and 20 mg) and atorvastatin (10 Mg and 20 mg) in patients with type 2 Diabetes mellitus*), o qual indicou que tanto a rosuvastatina quanto a atorvastatina apresentaram efeito semelhante na redução da PCR em pacientes com diabetes, no entanto, maior diminuição da LDL no grupo rosuvastatina (BETTERIDGE; GIBSON; SAGER, 2007).

Por outro lado, o estudo METEOR (*Measuring Effects on Intima-Media Thickness: an Evaluation of Rosuvastatin*) constatou ainda que a rosuvastatina (40mg) foi associada à diminuição da progressão e/ou regressão do espessamento da íntima/média carótida, após 2 anos do uso da droga em pacientes de meia idade com baixo risco cardiovascular e aterosclerose subclínica de leve a moderada (CROUSE *et al*, 2007). Resultados semelhantes em relação à diminuição percentual do diâmetro da estenose foram identificados no estudo ASTEROID (*A Study to Evaluate the Effect of Rosuvastatin on Intravascular Ultrasound-Derived Coronary Atheroma Burden*) (BALLANTYNE *et al*, 2008<sup>b</sup>).

## 6.2. Avaliação do *status* dos minerais zinco e selênio: efeitos do uso da rosuvastatina e suplementação de zinco e selênio

### 6.2.1. Zinco

O zinco plasmático é o biomarcador mais utilizado na avaliação do *status* de zinco, pois em nível individual, a concentração do mineral no plasma ou soro é importante para detectar deficiência grave, com algumas limitações para o diagnóstico da deficiência marginal. Valores dentro da faixa de referência podem não refletir com segurança os estoques corpóreos, devido às flutuações de cerca de 20% que ocorrem durante o dia, bem como das alterações decorrentes de infecção aguda, inflamação e outros fatores, como cirrose, hipoalbuminemia, gravidez, uso de contraceptivos orais e condições associadas à hemólise (FAIRWEATHER-TAIT; HARVEY; FORD, 2008).

Os estudos sobre avaliação do *status* de zinco em pacientes idosos, com aterosclerose ou outras enfermidades cardíacas, têm apresentado resultados controversos. Confrontando os dados de zinco plasmático encontrados no presente estudo com os pontos de corte propostos por Gibson (1990), constatou-se que as medianas dos grupos estão dentro da faixa de normalidade (70-110µg/dL), sem alteração significativa em função do uso da suplementação e/ou estatinas (**Tabela 8**). Analisando individualmente os dados, observou-se que cerca de 30% dos indivíduos encontravam-se com valores >70mg/dL, modificando-se para 20% no segundo momento do estudo em ambos os grupos, independentemente da intervenção com minerais.

Apesar dos altos percentuais de prevalência de inadequação da ingestão de zinco na dieta dos pacientes com aterosclerose do presente estudo (**Figura 12**), a concentração deste mineral no plasma pareceu não refletir uma relação direta. Maret e Sandstead (2006) explicam que os valores de zinco no plasma podem ser mantidos dentro da faixa aceitável por várias semanas ou meses, até mesmo em situações que a dieta só fornece 2,6 a 3,6mg/dia, quantidades que são insuficientes para manter as funções biológicas do mineral, tendo em vista os mecanismos homeostáticos do mineral no organismo.

Estes valores de medianas de zinco plasmático dos participantes se aproximaram da média encontrada em outro estudo que avaliou 188 idosos saudáveis da França, Reino Unido e Itália, com idade entre 55-70 anos (84,88±9,81µg/dL) (ANDRIOLLO-SANCHEZ *et al*, 2005). Dados semelhantes de concentrações médias de zinco sérico também foram observados em 81 pacientes com doença arterial coronariana (75,86±1,17µg/dL), resultado

que foi estatisticamente diferente daqueles 33 com angiograma normal ( $88,94 \pm 1,31 \mu\text{g/dL}$ ). (KAZEMI-BAJESTANI *et al*, 2007). Em concordância com estes achados, Ghayour-Mobarhan *et al* (2008) constataram uma média de  $86,91 \pm 1,31 \mu\text{g/dL}$  de zinco sérico em 55 adultos com doença arterial coronariana, resultado que foi inferior quando comparado ao grupo de 183 pacientes dislipidêmicos ( $93,00 \pm 0,98 \mu\text{g/dL}$ ) e 135 controles saudáveis ( $90,51 \pm 1,31 \mu\text{g/dL}$ ).

Contraditoriamente, outro estudo conduzido com 130 homens saudáveis com aterosclerose e 130 controles pareados por idade, revelou valores médios de zinco plasmático bem superior aos encontrados na presente investigação, sem diferença estatística entre o grupo aterosclerose ( $132 \pm 70 \mu\text{g/dL}$ ) e controles ( $130 \pm 10 \mu\text{g/dL}$ ) (ALISSA *et al*, 2006). Corroborando estas informações, concentrações maiores de zinco sérico foram identificadas em 28 pacientes com aterosclerose obstrutiva ( $117,72 \pm 20,93 \mu\text{g/dL}$ ), em relação aos 12 controles sem a doença ( $96,14 \pm 12,42 \mu\text{g/dL}$ ) (ISKRA; MAJEWSKI, 2000). Média de zinco sérico de  $105 \pm 28 \mu\text{g/dL}$  foi constatada em 30 pacientes portadores de cardiomiopatia isquêmica, diferente do grupo de 27 adultos saudáveis ( $112 \pm 42 \mu\text{g/dL}$ ) (SHOKRZADEH *et al*, 2009).

Por outro lado, a deficiência de zinco no plasma é um achado frequente, especialmente em idosos e/ou com doenças crônicas. Observou-se que dos 668 idosos internados em hospital francês por doença cardiovascular, 20,2% tinham deficiência plasmática de zinco ( $<70 \mu\text{g/dL}$ ) (BELBRAOUEZ *et al*, 2007). Concentrações de zinco plasmático menores também foram observadas em 56 idosos portadores e não-portadores de catarata senil em Teresina/Piauí ( $70,99 \pm 18,63 \mu\text{g/dL}$ ) (SOARES *et al*, 2008), e em 80 idosos saudáveis moradores de Araraquara/São Paulo ( $42,51 \pm 24,85 \mu\text{g/dL}$  para os homens e  $47,08 \pm 22,89 \mu\text{g/dL}$  para as mulheres) (CESAR; WADA; BORGES, 2005). Em 54 pacientes com falência cardíaca também foram registrados baixos valores de zinco sérico ( $55,5 \pm 10,4 \mu\text{g/dL}$ ) (KOŞAR *et al*, 2006). Estudo de coorte conduzido com 3316 participantes submetidos à angiografia coronariana e acompanhados durante 7,5 anos, demonstrou que a baixa concentração de zinco sérico é um preditor significativo de mortalidade por doença cardiovascular (PILZ *et al*, 2009).

Nas síndromes coronarianas agudas, como o infarto agudo do miocárdio, autores têm estudado as alterações de minerais, correlacionando com o prognóstico desfavorável em pacientes com deficiência. Em 70 pacientes pós-infarto do miocárdio, observou-se que o grupo III que apresentou maior dano do miocárdio, avaliado por marcadores bioquímicos (troponinas cardíacas e creatina quinase), tinham menores concentrações séricas de zinco ( $92 \pm 23,9 \mu\text{g/dL}$ ), em relação ao grupo II ( $117 \pm 44,7 \mu\text{g/dL}$ ) e grupo I ( $115 \pm 43,2 \mu\text{g/dL}$ ), sugerindo que os elementos traços podem servir, não somente como marcador de inflamação

em resposta à necrose do miocárdio, mas como um indicador de efeitos adversos decorrentes de complicações cardíacas agudas (ALTEKIN *et al*, 2005).

Na ausência de um marcador clínico sensível do status de zinco no organismo, recomenda-se a avaliação deste elemento em diferentes compartimentos (WOOD, 2000). A determinação de zinco no eritrócito levanta discussões e divide opiniões. Há os que o consideram um biomarcador útil pelas suas vantagens: (1) as células circulantes podem refletir os níveis do mineral em tecidos sanguíneos; (2) fácil disponibilidade do sangue total, e conseqüentemente, das células sanguíneas; (3) a meia vida das células de 120 dias pode oferecer informações sobre os estoques do organismo; (4) as concentrações do mineral em células vermelhas sanguíneas não estão sujeitas a variações transitórias assim como o plasma. Por outro lado, as concentrações de zinco no eritrócito podem sofrer alterações com a idade, ou seja, durante a infância são registrados baixos teores, com aumento gradual na adolescência, permanecendo estável na vida adulta (VITOUX; ARNAUD; CHAPPUIS, 1999). Outros autores justificam que a meia-vida de 120 dias restringe a aplicação das medidas de zinco no eritrócito como marcador em intervenções dietéticas de curto prazo (NEGGERS *et al*, 1997).

Dados sobre as medidas de zinco eritrocitário em pacientes com aterosclerose são ausentes na literatura. Além disso, a falta de padronização das unidades para expressão das concentrações de zinco nestas células e a indefinição de valores de referência para os ensaios, dificultam as comparações e interpretação dos resultados das investigações (GIBSON *et al*, 2008).

Em se tratando das concentrações de zinco eritrocitário dos pacientes com aterosclerose estudados, observou-se que, diferentemente do plasmático, os valores das medianas estiveram acima dos pontos de corte estabelecidos ( $40-44\mu\text{g/gHb}$ ) em cerca de 70% dos pacientes em ambos os grupos. Este quadro se manteve inalterado diante do uso das estatinas e/ou suplementação com zinco e selênio (**Tabela 8**). Médias de zinco eritrocitário menores foram encontradas em 56 idosos portadores e não-portadores de catarata senil em Teresina/Piauí ( $44,33\pm 9,15\mu\text{g/gHb}$ ) (SOARES *et al*, 2008).

Alguns estudos que envolvem análises de zinco no eritrócito em situações de doenças crônicas, como em pacientes com doença renal, têm demonstrado valores de zinco elevados, em conformidade com o constado no nosso estudo. Em 38 pacientes adultos com doença renal crônica não-dialisados encontrou-se médias de zinco no eritrócito de  $49,0\pm 7,6\mu\text{g/gHb}$  (MAFRA; COZZOLINO, 2004). Estudo realizado em Natal/RN foram identificadas médias



acima de 50  $\mu\text{g/gHb}$  em 63 pacientes com insuficiência renal crônica em hemodiálise portadores ou não de *diabetes mellitus* (BATISTA *et al*, 2006).

As interações entre fármacos-nutrientes despertam bastante interesse na prática clínica, tendo em vista o crescente conhecimento da influência do *status* nutricional, alimento ou nutrientes específicos na farmacocinética e farmacodinâmica dos medicamentos, bem como a relação destes últimos com o *status* nutricional ou de um nutriente específico (SANTOS; BOULLATA, 2005<sup>b</sup>). Em se tratando da relação do zinco e o uso das estatinas, estudos recentes apontam que a homeostase do zinco intracelular via metalotioneína é fundamental para modular as respostas inflamatórias e do estresse oxidativo induzidas pelas estatinas, tendo em vista que este mineral pode estar relacionado à expressão de genes que são ativados pela ação destes fármacos (COSTARELLI *et al*, 2008).

Nesta perspectiva, especula-se que as estatinas estimulam o aumento da expressão de fatores de transcrição membros da família de proteínas “*zinc fingers*, denominados *Krüppel-Like* (KLF). Estas proteínas apresentam inúmeras funções no endotélio, tais como: antitrombótica, regulação da adesão de leucócitos, proliferação, migração e angiogênese e da expressão de fatores implicados na vasoreatividade e tônus muscular (SEN-BANERJEE *et al*, 2005; ATKINS; JAIN, 2007). Constatou-se que os efeitos ateroprotetores das estatinas ocorrem via aumento da expressão do KLF2, sugerindo um novo mecanismo, por meio do qual as estatinas poderiam regular a expressão gênica endotelial dependente da disponibilidade de zinco do organismo (PARMAR *et al*, 2005).

Na presente investigação, não foram observadas modificações no *status* de zinco e selênio em pacientes com aterosclerose, mediante o uso da rosuvastatina 10mg/dia durante 16 semanas, concomitante ou não o uso da suplementação com os minerais (**Tabela 8**). Contrariando parcialmente os nossos achados, Leonhardt *et al* (1997) avaliando o efeito do tratamento com fluvastatina (80mg/dia) em 40 pacientes com hipercolesterolemia, por 8 semanas, identificaram diminuição significativa nas concentrações de zinco plasmático após o tratamento, enquanto que o selênio plasmático não sofreu alterações. Do mesmo modo, pacientes tratados com sinvastatina (n=11) ou atorvastatina (n=9), na dosagem de 10mg por 4 meses, tiveram redução nas concentrações de zinco e cobre sérico, embora somente significativa no grupo sinvastatina. Os níveis de selênio sérico também não foram modificados. Os autores sugerem que o *status* de elementos traços pode ser alterado pelo tratamento com estatinas nas doses utilizadas na prática, e que este efeito pode ser atribuído, em parte, às propriedades antiinflamatórias das estatinas (GHAYOUR-MORBARHAN *et al*, 2005).

Em contrapartida, identificaram-se concentrações de zinco eritrocitário maiores em 35 pacientes com hipercolesterolemia e 27 controles saudáveis, e após o uso da fluvastatina (40mg/dia) por 12 semanas, houve aumento do zinco eritrocitário no grupo hipercolesterolemia, indicando que o tratamento induz as maiores concentrações do mineral intracelular, devido ao seu envolvimento na atividade antioxidante (YILMAZ *et al*, 2004).

Considerando os riscos da deficiência de zinco e a magnitude das suas funções biológicas essenciais, a suplementação com este mineral representa um impacto significativo em diferentes aspectos da saúde humana. Portanto, ao longo dos anos, inúmeros estudos que envolvem suplementação de zinco têm sido conduzidos, com o objetivo de investigar os efeitos nutricionais das intervenções em diferentes doenças, frequentemente com resultados contraditórios. Vários são os fatores que dificultam as comparações entre os estudos: (1) o *status* de zinco dos participantes deveria ser conhecido, uma vez que os deficientes reagem diferentemente à suplementação; (2) normalmente mede-se o total de zinco sérico e plasmático, o que não determina o *status* de zinco individual, já que a capacidade de ligação das proteínas ao zinco pode ser diferente; (3) os parâmetros de zinco sérico e plasmático não identificam deficiência marginal; (4) o desenho do estudo – por exemplo, alguns estudos não indicam com detalhes a forma química da composição do suplemento (HASSE; OVERBECK; RINK, 2008).

Sobre a forma química utilizada nos programas de suplementação, diversos complexos de zinco (zinco picolinato, citrato e gluconato) testados em doses variadas têm aumentado a biodisponibilidade oral, quando comparado ao sulfato de zinco encontrado nos alimentos. No entanto, o zinco bis-glicina, um novo quelado formado por duas moléculas de glicina ligadas a um cátion zinco, apresentou melhor biodisponibilidade em comparação ao zinco gluconato, quando testados na quantidade de 15mg em 20 voluntárias saudáveis. Alguns fatores explicam a superioridade do zinco bis-glicina: (1) cada molécula de glicina contém dois grupos funcionais que são capazes de coordenar ligações covalentes com o zinco; (2) as moléculas podem criar um anel com o íon zinco, formando uma estrutura estável; (3) apresenta baixo peso molecular, podendo ser capaz de atravessar as membranas; (4) não é afetado pelas mudanças de pH de 2 a 6 (GANDIA *et al*, 2007).

Nesta investigação não foram constatadas alterações no *status* de zinco, avaliadas pelas medidas de zinco no plasma e eritrócito, após suplementação com 30mg de zinco bis-glicina e 150µg de selênio em pacientes com aterosclerose (**Tabela 8**). Estes resultados corroboram os obtidos por Cragg *et al* (2005), que também não encontraram diferenças significativas no zinco sérico e plasmático em 18 pacientes com idade entre 33-76 submetidos

a ileostomia, suplementados com 25mg de sulfato de zinco durante 14 dias. Os autores realizaram biópsia do intestino e estudaram as respostas regulatórias dos transportadores de zinco diante das mudanças da ingestão do mineral na dieta. Os resultados demonstram que o grupo suplementado apresentou uma menor expressão do mRNA SLC30A1 e das proteínas SLC30A1, SLC30A5 e SLC39A4. Os mecanismos ainda não foram elucidados, mas levantam-se as hipóteses que a menor expressão destes transportadores, diante de uma maior demanda de zinco, parece ser uma resposta que contribui para a homeostase de zinco, ou ainda, que a suplementação repercutiria em uma deficiência de cobre e este, por sua vez, poderia ser um substrato adicional para os transportadores estudados, bem como a competição entre os dois metais para o transporte, contribuiria mecanicamente para os resultados encontrados.

Em outro estudo de intervenção com 10mg de zinco aspartato em idosos, observou-se que o aumento de zinco plasmático após a suplementação foi mais evidente em idosos que apresentam deficiência de zinco no momento inicial do estudo. Destacou-se ainda que o tempo de duração da intervenção de 7 semanas influenciou nos resultados, uma vez que alguns pacientes apresentaram concentrações de zinco plasmático classificadas como marginal ou deficiente ao final do acompanhamento (MARIANI *et al*, 2008<sup>b</sup>).

Em indivíduos saudáveis com idade entre 55-70 anos e concentrações de zinco sérico e eritrócito basais dentro da faixa de normalidade, a suplementação com o mineral na forma de gluconato por 6 meses, somente favoreceu o aumento significativo nas concentrações de zinco sérico e urinário no grupo de pacientes que recebem 30mg do mineral. Em contrapartida, tanto o grupo placebo (n=31), quanto os grupos zinco 15mg (n=28) e 30mg (n=34) não apresentaram efeitos nas concentrações de zinco no eritrócito (HODKINSON *et al* 2007). Observou-se também aumento do zinco plasmático em 10 indivíduos saudáveis (19-50anos) submetidos à suplementação com 45mg de gluconato de zinco por 8 semanas, comparado com o grupo recebendo placebo (PRASAD *et al*, 2004).

Outra publicação desmontou que a suplementação de zinco na forma de acetato, gluconato ou sulfato com doses que variaram entre 15 a 100mg, provocou aumentos mais expressivos no zinco plasmático em homens e com doses maiores de sulfato de zinco nos estudos com  $\leq 14$  semanas de duração. A suplementação isolada com o zinco mostrou ter mais impacto sobre o mineral no plasma do que quando co-administrado com outros nutrientes (FOSTER; PETOCZ; SAMMAN, 2010).

Estas diferenças podem ser explicadas pela falta de linearidade na farmacocinética do zinco em doses acima de 20mg, devido à saturação da absorção oral (TRAN *et al*, 2004). Por

outro lado, a forma química do zinco (sal ou quelado), a formulação farmacêutica (presença de excipientes) e a divisão das doses administradas são outros fatores que modificam a biodisponibilidade oral de zinco. Observou-se diminuição da biodisponibilidade oral do mineral quando o gluconato de zinco foi associado ao amido, lactose, sílica hidratada e estearato de magnésio, comparado com mesmo suplemento sem excipientes (NÈVE *et al*, 1993).

### 6.2.2. Selênio

O *status* de selênio em humanos pode ser avaliado por meio de medidas no plasma, eritrócitos, unhas, sangue total, selenoproteína P plasmática e atividade da GPx no sangue total, plasma e plaquetas. A avaliação deste elemento no plasma certamente é um biomarcador importante em diferentes situações orgânicas (ASTHON *et al*, 2009). No entanto, a interpretação destes biomarcadores é complexa, pois as concentrações de selênio não dependem somente da exposição, mas também da forma de ingestão, do metabolismo e resposta fisiopatológica associadas às condições de estresse oxidativo e inflamação (FLORES-MATEO *et al*, 2006).

Analisando os valores de selênio plasmáticos dos pacientes com aterosclerose e angina estável estudados, identificou-se que os valores das medianas deste elemento no plasma, estiveram próximas ao limite mínimo da faixa de referência 60-120µg/L (ORTUÑO *et al*, 1997), nos grupos suplementado e placebo antes e após as intervenções (**Tabela 8**). Destaca-se que, apesar da similaridade deste biomarcador nos grupos, no placebo, o percentual de pacientes com concentrações de selênio plasmático abaixo do ponto de corte (T0=42,2% e T1=47,3%) foi maior quando comparado ao grupo suplementado (T0 e T1 = 26,3%). A idade, obesidade e eventos cardiovasculares são os principais fatores associados ao declínio de selênio plasmático em idosos (ARNAUD *et al*, 2007). Estas informações corroboram às encontradas nesta pesquisa, uma vez que a grande maioria da amostra era formada por pacientes idosos, com sobrepeso e portadores de hipertensão arterial, além de todos apresentarem aterosclerose.

Em estudo de coorte que acompanhou 553 pacientes portadores de aterosclerose com sintomas de angina estável ou instável durante 4,7 anos, os achados das concentrações basais de selênio plasmático foram semelhantes aos do presente estudo (74,5±33,5µg/L). No grupo de 83 pacientes, que no decorrer da coorte apresentou algum evento cardiovascular ou foram a óbito, a média de selênio plasmático foi de 69,5±32,6µg/L, sugerindo que as baixas

concentrações deste mineral podem representar prognóstico desfavorável em pacientes com aterosclerose (BLANKENBERG *et al*, 2003).

De acordo ainda com estes achados, em 1731 pacientes com síndromes coronarianas agudas que foram a óbito por doença cardiovascular encontrou-se valores médios de selênio sérico menores ( $61 \pm 22,5 \mu\text{g/L}$ ) comparado aos pacientes com angina estável ( $74 \pm 28,1 \mu\text{g/L}$ ). Os resultados confirmaram a relação independente dos baixos níveis de selênio e a maior incidência de eventos cardiovasculares somente em pacientes com síndromes coronarianas agudas. Esta relação pode ser explicada pelo poder deste mineral em diminuir o estresse oxidativo, protegendo contra a gravidade de arritmias e fibrilação ventricular irreversível, além do envolvimento na regulação do NF- $\kappa$ B, que influencia vias cruciais de inflamação na aterosclerose (LUBOS *et al*, 2010).

Por outro lado, dados de selênio plasmático maiores foram encontrados em outros estudos que acompanharam pacientes com aterosclerose (ALISSA *et al*, 2006; KOSAR; TASKAPAN; KUCUKBAY, 2007). Existem controvérsias se o número de lesões ateroscleróticas influencia nas concentrações de selênio. Em 76 portadores de aterosclerose com idade entre 30-77 anos observou-se que as concentrações diminuem em função do número de lesões  $\geq 50\%$ , ou seja, os pacientes com 1 lesão apresentavam média de selênio plasmático de  $119,2 \pm 6,02 \mu\text{g/L}$ ; 2 lesões  $111,3 \pm 10,23 \mu\text{g/L}$ ; e 3 lesões  $105 \pm 4,28 \mu\text{g/L}$  (MOORE; NOIVA; WELLS, 1984). Em contradição, diferenças entre os níveis de selênio sérico entre pacientes com aterosclerose e controles não foram encontradas, bem como não foram confirmadas as relações entre o selênio sérico e a gravidade das lesões ateroscleróticas (PARIZADEH *et al*, 2009).

Quanto a esta variabilidade de resultados em relação às concentrações de selênio em pacientes com aterosclerose, uma pesquisa cujo objetivo foi avaliar o selênio sérico e a prevalência de doença arterial periférica em 2062 homens e mulheres com idade acima de 40 anos nos Estados Unidos, demonstrou que a associação entre as concentrações de selênio sérico e a doença arterial periférica não foi estatisticamente significativa, porém observou-se que a prevalência desta doença diminui à medida que o selênio sérico esteja na faixa de 150-160  $\mu\text{g/L}$ , seguido de um aumento gradual com concentrações de selênio mais altos. Os mecanismos biológicos que indicam os efeitos do selênio no sistema cardiovascular são complexos, porém estão relacionados ao duplo papel tóxico ou essencial deste elemento (BLEYS *et al*, 2009). Do mesmo modo que o selênio é fundamental para compor a glutatona peroxidase e outras selenoproteínas, alguns compostos em excesso geram espécies reativas de oxigênio (DRAKE, 2006), portanto, as altas prevalências de doenças arteriais periféricas

observadas em pacientes com níveis elevados de selênio, podem estar associadas ao estresse oxidativo induzido pelo excesso deste elemento (BLEYS *et al*, 2009).

A determinação de minerais em células vermelhas tem sido desenvolvida por considerar que as células circulantes podem refletir as concentrações teciduais. Nestas e em outras células, o selênio previne a deterioração, protegendo contra a oxidação. Com exceção da glutatona peroxidase citosólica, que está bem caracterizada, outras formas de selenoproteínas em eritrócitos não foram bem identificadas, embora as propriedades antioxidantes do selênio sejam muito importantes para estas células. A maior parte deste mineral está ligada à hemoglobina e uma pequena parte à glutatona peroxidase. As alterações de selênio nos eritrócitos são altamente dependentes dos hábitos dietéticos e região geográfica, não sendo influenciadas por outras variáveis como idade e sexo (VITOUX; ARNAUD; CHAPPUIS, 1999).

Especula-se que as dificuldades nas análises de selênio nos eritrócitos, bem como a ocorrência de resultados duvidosos, limitam o uso deste indicador na avaliação do *status* de selênio em estados patológicos, justificando a escassez de dados de selênio no eritrócito publicados na literatura. No presente estudo, identificamos medianas de selênio eritrocitário dentro da faixa de referência para os grupos placebo e suplementado, antes e após o uso da rosuvastatina e/ou suplementação de zinco e selênio (**Tabela 8**). Avaliando os pacientes com valores de selênio eritrocitário abaixo dos pontos de corte, destacam-se percentuais semelhantes de indivíduos nesta faixa, no momento inicial, no grupo suplementado e placebo (31,6% e 26,3%). No entanto, estes percentuais de deficiência no segundo tempo do estudo diminuíram para 15,8% no grupo suplementado, enquanto que no grupo placebo este permaneceu inalterado (26,3%).

Concentrações menores de selênio eritrocitário foram identificadas em 81 adultos residentes no Estado de São Paulo portadores de doença renal crônica em hemodiálise ( $72,4 \pm 37,9 \mu\text{g/L}$ ) (STOCKLER-PINTO *et al*, 2009). Resultados menores também foram observados em 28 idosos com doença de Alzheimer e idade entre 60-89 anos ( $43,74 \pm 23,02 \mu\text{g/L}$ ), estatisticamente diferente dos 29 controles sem a doença ( $79,16 \pm 46,38 \mu\text{g/L}$ ) (CARDOSO *et al*, 2010).

Um estudo que objetivou avaliar as concentrações de minerais em pacientes com doença arterial coronariana, constatou menores concentrações de selênio no eritrócito em relação ao grupo controle. Não foram observadas diferenças significantes no selênio eritrocitário quando os pacientes foram agrupados de acordo com a gravidade da aterosclerose

coronariana, ou seja, levando em conta o número de artérias com estenose como critério de gravidade da doença (OSTER *et al*, 1989).

Em pacientes portadores de infarto agudo do miocárdio constatou-se baixos valores de selênio eritrocitário quando comparado ao grupo saudável. Apesar das medidas de selênio no eritrócito refletirem o *status* do mineral por um período de várias semanas, considerando a sua meia vida longa, as baixas concentrações deste elemento no eritrócito observadas no grupo de pacientes após infarto, provavelmente indicam um estado de deficiência anterior ao evento agudo, sugerindo que este dado pode ter alguma relevância etiológica (KOK *et al*, 1989; BOR *et al*, 1999).

Os estudos sobre a relação do uso das estatinas e o comprometimento do *status* de minerais, principalmente os que envolvem a rosuvastatina, são escassos. De acordo com os dados apresentados na **Tabela 8**, percebe-se que a intervenção com a rosuvastatina 10mg durante 4 meses não influenciou significativamente os níveis plasmáticos e eritrocitários de selênio dos pacientes com aterosclerose. Do mesmo modo, não foram identificadas diferenças estatisticamente significantes nos valores de selênio sérico em 20 pacientes com dislipidemias tratados com sinvastatina 10mg e atorvastatina 10mg por 4 meses (GHAYOUR-MOBARHAN *et al*, 2005). O tratamento com fluvastatina 40mg por 8 semanas em pacientes hipercolesterolêmicos também não causou alterações no selênio sérico (LEONHARDT *et al*, 1997). Diferentemente, 71 pacientes portadores de doença renal crônica em hemodiálise sob tratamento com atorvastatina 10 e 20mg, sinvastatina 20mg e pravastatina 40mg, apresentaram concentrações maiores de selênio sérico após 6 meses, quando comparado ao grupo de pacientes sem o fármaco (TACCONE-GALLUCI *et al*, 2010).

O estudo prospectivo EVA (*Etude du Vieillissement Artériel*) que acompanhou durante 9 anos pacientes dislipidêmicos, constatou um declínio no selênio sérico nos grupos tratados com fibratos (n=47) e estatinas (n=25), embora estas concentrações fossem ainda menores no grupo estatina. Discute-se se o impacto dos inibidores de HMG-CoA redutase sobre a síntese de selenoproteínas pode estar associado à deficiência de selênio (ARNAUD *et al*, 2009).

Dentro deste contexto, alguns trabalhos apontam para o fato das estatinas interferirem na síntese das selenoproteínas, sugerindo que muitos dos efeitos colaterais destes fármacos poderiam acontecer em decorrência desta interação, especialmente em relação às miopatias. As estatinas possuem a capacidade de reduzir o colesterol sanguíneo por afetar diretamente a via de formação do colesterol endógeno, atuando como inibidor da HMG-CoA redutase, impedindo a conversão da HMG-CoA em mevalonato. A partir deste passo, o próximo



produto da cascata é o isopentenil pirofosfato (IPP), que é um substrato da isopentenil transferase Sec tRNA (MOOSMAN; BEHL, 2004<sup>a</sup>).

O SeC tRNA, portanto, é responsável pela expressão de todas as selenoproteínas, mas somente torna-se funcional após certas modificações pós-transcricionais, dentre elas a isopentenilação da adenosina 37. Neste contexto, postula-se que as estatinas interferem na isopentilação enzimática do SeC-tRNA, prejudicando a sua maturação para uma molécula de tRNA funcional, resultando em uma diminuição da disponibilidade das selenoproteínas. Estudos em animais sugerem que nem todas as selenoproteínas são afetadas igualmente, devendo haver uma variação entre os tecidos, assim como é visto em situações de deficiência de selênio. Provavelmente a síntese da selenoproteína N, responsável pela regeneração dos miócitos, seja a mais afetada, causando as miopatias observadas como uma das colateralidades do uso das estatinas. A hipótese mais discutida é que o aumento da ingestão de selênio pode resultar em melhora da eficácia catalítica e *turnover* das moléculas de Sec-tRNA maduras, podendo diminuir efeitos colaterais das estatinas (MOOSMAN; BEHL, 2004<sup>b</sup>).

A suplementação de selênio dietético constitui-se em um método seguro e conveniente para aumentar a proteção antioxidante em idosos, especialmente naqueles em risco de doença cardíaca isquêmica, ou os que se submeterão a procedimentos clínicos que envolvem períodos transitórios de hipóxia, como angioplastia coronariana com colocação de *stents*, cirurgias ou transplantes cardíacos. O aumento na ingestão selênio ou compostos contendo selenocisteína, pode representar uma nova estratégia para a proteção contra o estresse oxidativo e melhora da recuperação após isquemias do miocárdio (VENARDOS; KAYE, 2007).

Constatou-se uma tendência a maiores concentrações de selênio no eritrócito no grupo suplementado após a intervenção com o mineral na forma de selenito, apesar da ausência de significância estatística (**Tabela 8**). Este fato pode ser atribuído ao caminho metabólico do selenito, que uma vez no organismo, é rapidamente captado pelos eritrócitos, onde são reduzidos à selenídeo, lançados na corrente sanguínea ligados à albumina e transportados até o fígado, para conseqüentemente, serem utilizados na síntese de GPx e selenoproteína P (SUZUKI, 2005).

Observou-se que a ingestão de selênio no grupo suplementado não ultrapassou os limites máximos sugeridos, ou seja, 400µg/dia. Analisando os alimentos fontes de selênio consumidos pelos pacientes do presente estudo, constatamos maior frequência daqueles de origem animal (carnes, frangos), feijões, alimentos preparados contendo trigo (pães, biscoitos, macarrão) e a ausência no consumo de castanha do Brasil e de caju.



Contrariando parcialmente estes resultados, foi observado que pacientes com aterosclerose suplementados com selenito de sódio nas dosagens de 200 $\mu$ g (n=148) ou 500 $\mu$ g (n=141) durante 12 semanas, apresentaram valores aumentados de selênio no plasma, com maiores concentrações no grupo 500  $\mu$ g. Uma análise intermediária na 6ª semana foi realizada e verificou-se que o aumento foi maior na primeira metade do estudo, mantendo-se valores constantes até o final da 12ª semana (SCHNABEL *et al*, 2008).

A alteração de alguns biomarcadores do *status* de selênio diante da ingestão é dependente das concentrações basais ou se este biomarcador atinge um *plateau* no início da intervenção. O selênio plasmático é uma exceção, uma vez que a resposta é observada independente das concentrações basais (ASTHON *et al*, 2009). Este biomarcador reflete a ingestão dietética da maioria das formas do selênio, no entanto, na ausência de mecanismos regulatórios bem descritos, possivelmente não acontece um *plateau* absoluto, mas as concentrações atingem um limiar constante entre 10-12 semanas de intervenção. Além da dose, a resposta plasmática ao selênio dietético é dependente da espécie, portanto, o consumo de duas formas pode resultar em diferentes concentrações plasmáticas de selênio (FAIRWEATHER-TAIT; COLLINGS; HURST, 2010).

Existem ainda vários fatores farmacológicos dos suplementos de selênio que influenciam na sua biodisponibilidade. Neste ponto, incluem-se interações com outros micronutrientes da mesma formulação, efeitos de uma administração simultânea com outros medicamentos, horário, tempo e dosagem prescrita. Existe um consenso que mais estudos são necessários, no sentido de se obter melhor conhecimento sobre a quantidade de selênio presente nos suplementos que está realmente biologicamente disponível para o organismo (NAVARRO-ALARCÓN; LÓPEZ-MARTÍNEZ, 2000).

Em relação à forma química dos suplementos, os compostos orgânicos (selenometionina e selenocisteína) e inorgânicos (selenito e selenato) diferem em relação a sua biodisponibilidade e distribuição nos tecidos. As formas orgânicas são mais biodisponíveis, apresentam melhor absorção e retenção, portanto, são mais efetivas em aumentar as concentrações sanguíneas de selênio. Estas diferenças são atribuídas à habilidade da selenometionina, proveniente de fontes orgânicas, de ser incorporada no lugar da metionina em proteínas que compõem os tecidos do músculo esquelético, eritrócitos, albumina plasmática, atuando como um estoque de selênio. Existem evidências que a meia-vida da selenometionina e selenito no organismo humano seja de 252 e 102 dias, respectivamente, sugerindo que o selênio administrado como selenometionina permanece 2,5 vezes mais tempo no organismo que o selenito (RAYMAN; INFANTE; SARGENT, 2008).

Comparando o efeito da suplementação com 125µg de selênio na forma de selenito de sódio ou 125µg como levedura enriquecida com selenometionina, sobre o *status* de selênio em idosos saudáveis com idade entre 65-87anos na Dinamarca, observaram-se que a suplementação com a forma orgânica resultou em um aumento contínuo das concentrações de selênio no eritrócito e plasma em torno de 120 a 100%, respectivamente, durante os 4 meses do estudo sem atingir *plateau*. Este aumento pode ser reflexo de ligações não-específicas do selênio com proteínas de alto peso molecular e albumina plasmática. Por outro lado, a suplementação com selenito de sódio, provocou um aumento de 30% nos valores de selênio no plasma e eritrócito, os quais alcançaram níveis constantes após 4 semanas de intervenção, provavelmente como resultado de uma regulação renal. As concentrações de selênio no eritrócito permaneceram inalteradas ao final do estudo no grupo tratado com selenito de sódio (LASSEN; HORDER, 1994).

A dose de selênio mais frequentemente utilizada nos estudos de intervenção é 200µg/dia, de forma que os valores de ingestão não ultrapassem o limite superior definido pelo FNB-IOM (2000) de 400µg/dia. Os efeitos da suplementação de selênio em diferentes doses: ~200µg/dia, ~400µg/dia e ~600µg/dia nas formas de selenito de sódio, levedura enriquecida com selênio e L-selenometionina foram testados, observando-se maior aumento nas concentrações plasmáticas de selênio na 4ª semana, que se manteve constante até a 16ª semana, principalmente nos grupos selenometionina ou levedura dependente da dose. Em contrapartida, as doses menores de selênio na forma de selenito (200 e 400µg/dia) não causaram aumento significativo do elemento no plasma, enquanto que a dose maior (600µg/dia) provocou aumento de 26% apenas na 16ª semana. Analisando a excreção urinária do mineral, não foram observadas variações significantes em função da dose, sugerindo que o selênio pode ser eliminado pelas células da pele e fezes. Discute-se que mais de 90% da selenometionina administrada é absorvida, enquanto que para selenito este percentual é de aproximadamente 50, justificando o maior aumento no selênio plasmático diante da selenometionina. Outro ponto, é que o fato do selenito não ser incorporado no *pool* da metionina, limita sua incorporação plasmática nas selenoproteínas e outras moléculas no plasma, explicando os efeitos do selenito nas respostas plasmáticas do selênio (BURK *et al*, 2006).

As fontes alimentares são alternativas preferenciais para a suplementação por melhorar o *status* nutricional, além de apresentam baixo custo e menor risco de toxicidade. A biodisponibilidade de selênio em uma variedade de alimentos vem sendo estudada, incluindo pães de trigo enriquecido com selênio, peixes e carnes. Dentre os alimentos, destaca-se a

castanha do Brasil como fonte principal de selênio, a qual apresenta efeitos comprovadamente satisfatórios sobre vários biomarcadores do *status* de selênio no organismo. A caracterização das espécies de selênio na castanha do Brasil indica que o principal componente é a selenometionina, porém as tentativas na identificação de outras espécies não têm tido êxito. Provavelmente, o selênio presente nestes compostos não identificados sejam mais biodisponíveis que a selenometionina (THOMSON *et al*, 2008).

Em pacientes portadores de doença renal crônica em hemodiálise a suplementação com castanha do Brasil (5g – 58,1µgSe/g) durante 3 meses, resultou em um aumento significativo do selênio plasmático (antes 18,8±17,4µg/L e após 104,0±65,0µg/L) e eritrocitário (antes 72,4±37,9µg/L e após 244,1±119,5µg/L), ressaltando que o consumo de apenas uma castanha do Brasil diária em pacientes com deficiência de selênio, favorece a recuperação do *status* de selênio adequado, melhorando a condição antioxidante deste grupo de pacientes (STOCKLER-PINTO *et al*, 2009).

Apesar das evidências apontarem para um melhor biodisponibilidade do selênio em fontes alimentares, como a castanha do Brasil, por exemplo, optou-se pela formulação da cápsula, uma vez que estávamos diante de uma população de idosos de baixa escolaridade, o que dificultava o controle no consumo da castanha, além da necessidade de associar a suplementação de selênio ao zinco. Diante deste fato, recorreremos ao uso forma inorgânica selenito, buscando utilizar matéria prima composta por minerais quelado, e consequentemente, mais biodisponível.

Estudos maiores randomizados controlados, incluindo doses variadas de selênio, com diversos meses de seguimento e *status* de selênio inicial bem definido, poderiam explicar esta heterogeneidade de resposta para a suplementação de selênio. Além disso, a avaliação mais minuciosa dos biomarcadores úteis e sensíveis do *status* de selênio permitiria comparar a sensibilidade relativa dos mesmos e entender os possíveis efeitos do genótipo, doses de suplementação, duração e *status* basal, bem como das limitações da aplicabilidade para diferentes grupos populacionais (ASTHON *et al*, 2009).

### 6.3. Avaliação da LDL(-), Ac Anti LDL(-) e Imunocomplexos Ac-LDL(-) e enzimas antioxidantes: efeitos do uso da rosuvastatina e suplementação de zinco e selênio

A LDLox é um dos antígenos mais prevalentes em lesões ateroscleróticas. Durante a oxidação da camada lipídica da partícula de LDL, são formados produtos de peroxidação lipídica altamente reativos, como o malonildialdeído, que reagem os grupos amino livres dos resíduos das 360 lisinas da apolipoproteína B. A modificação destas lisinas, não somente leva ao reconhecimento da LDLox pelos receptores *scavengers*, mas também torna a LDLox altamente imunogênica. Anticorpos anti-LDLox, por sua vez, entram nas lesões e formam imunocomplexos com a LDLox, os quais são captados pelos macrófagos via receptor Fc, receptores *scavengers* ou fagocitose (PALINSKI; TSIMIKAS, 2002).

As concentrações plasmáticas de LDLox também desempenha um importante papel no processo aterosclerótico e muitos estudos têm mostrado aumento desta partícula em pacientes com doença arterial coronariana (VERHOYE; LANGLOIS, 2009). Pacientes coronariopatas com infarto agudo do miocárdio apresentaram níveis séricos de LDLox mais elevados, comparados àqueles com angina instável ou estável, que se correlacionaram com a gravidade do quadro (HOLVOET *et al*, 1995).

Estes achados corroboram com os encontrados em pacientes com angina instável, os quais apresentaram altas concentrações de LDLox e atividade de NF-κB em relação aos controles, sugerindo que este fator de transcrição é ativado pela LDLox circulante, levando ao aumento do estresse oxidativo em pacientes com angina instável (COMINACINI *et al*, 2005). Em pacientes com angina instável e placas complexas angiograficamente documentadas, os resultados foram semelhantes, indicando que a LDLox pode ser um marcador de desestabilização da placa em pacientes com aterosclerose (ANSELMINI *et al*, 2006).

Por outro lado, a LDL(-), difere da LDL oxidada *in vitro*, por não apresentar fragmentação da apolipoproteína B e outras alterações decorrentes de uma oxidação excessiva. Esta partícula é, especificamente, reconhecida pelo TLR-4, CD14, resultando no início da macropinocitose, aumentando a captação de pequenas moléculas presentes na fase fluída, incluindo LDL nativa e oxidada (LEVITAN; VOLKOV; SUBBAIAH, 2009).

A LDL(-) é um autoantígeno importante no processo aterosclerótico e o papel pro ou anti-aterogênico dos anticorpos anti LDL(-) necessita ser completamente elucidado, pois sua resposta imune humoral pode ser modulada diferentemente no decorrer do processo de aterogênese (OLIVEIRA *et al*, 2006). No presente estudo, as concentrações de LDL(-)

apresentaram comportamento estatisticamente diferente entre os grupos placebo e suplementado no momento inicial do estudo (**Tabela 9**). Especula-se que o grupo placebo demonstrava uma série de fatores que pudesse explicar as diferenças, como maior percentual de pacientes com hipertensão, tempo menor de uso anterior de estatina, maior número de ex-fumantes que abandonaram o hábito há menos tempo (**Tabela 3**), maiores concentrações de PCR-as (**Figura 13**) e maior percentual de pacientes com ingestão de gordura saturada acima do ideal (**Figura 10B**). Por outro lado, identificou-se que as concentrações de anticorpos anti-LDL(-) e imunocomplexos não diferiu entre os grupos em nenhum momento do estudo (**Tabela 9**).

A relevância biológica dos anticorpos anti-LDLox permanece incertos. Estudos prospectivos indicam que o aumento nas concentrações destes anticorpos está associado ao risco de infarto, espessamento da íntima das carótidas e progressão da aterosclerose. A diferença entre os métodos pode ser uma explicação para os resultados conflitantes. A maioria dos estudos investiga a presença de anticorpos contra a LDL modificada pelo cobre ou malonildialdeído, levando a uma maior variabilidade de oxidação, dependendo do tempo de incubação, não refletindo o que acontece *in vivo* (TORNVALL *et al*, 2003).

As estatinas possuem efeitos que vão além da inibição da produção de colesterol endógeno. Estes efeitos pleiotrópicos adicionais envolvem a melhora da função endotelial, estabilidade de placas ateroscleróticas, diminuição do estresse oxidativo, inflamação e inibição da resposta trombogênica (LAHERA *et al*, 2007). Alguns mecanismos são propostos para o efeito antioxidante das estatinas: (1) efeito hipocolesterolêmico – diminuição do conteúdo de ácidos graxos e colesterol das lipoproteínas e redução plasmática das partículas de LDL mais densas, portanto, mais susceptíveis às modificações oxidativas (NORATA; PIRILLO, CATAPANO, 2003); (2) diminuição da produção de oxigênio pelas células – as estatinas podem atenuar a formação endotelial de superóxido por prevenir a pentinilação do p21 Rac, inibindo a ativação do NADPH oxidase (WASSMANN *et al*, 2001); (3) ligação em fosfolípidos na superfície das lipoproteínas – estatinas como a fluvastatina e lovastatina ligam-se a fosfolípidos da fração LDL, prevenindo a difusão de radicais livres gerados na camada da lipoproteína (AVIRAM *et al*, 1998); (4) produção de metabólitos com ação antioxidante – metabólitos derivados da atorvastatina e fluvastatina possuem potencial antioxidante, protegendo as lipoproteínas contra a oxidação (SUZUMURA *et al*, 1999).

No que se refere ao efeito do tratamento com a rosuvastatina e a relação com as concentrações de LDL(-), anticorpos anti LDL(-) e imunocomplexos, constatamos que estes valores mostrou-se inalterados em ambos os grupos suplementado e placebo após os 4 meses

de intervenção com rosuvastatina 10mg (**Tabela 9**). O confronto dos resultados encontrados no nosso estudo com outros dados publicados na literatura torna-se difícil pela falta de uniformidade dos ensaios e diversidade de anticorpos utilizados. Considerando o mesmo método de avaliação da LDL(-), Oliveira *et al* (2006) também comprovou que a terapia com estatinas não afetou as concentrações plasmáticas de LDL(-) em pacientes com angina estável.

Por outro lado, pacientes em uso de rosuvastatina 10 e 40mg apresentaram reduções nas concentrações de anticorpos anti-LDLox após 12 semanas de tratamento, as quais foram aumentando gradativamente até a 24<sup>a</sup> semana. No entanto, as concentrações de imunocomplexos LDLox permaneceram inalteradas até a 12<sup>a</sup> semana, com reduções até a 24<sup>a</sup> (RESCH *et al*, 2006). Estes resultados podem sugerir que os efeitos imunomoduladores da rosuvastatina é dependente do tempo de utilização da droga, levantando suspeitas que as inalterações das concentrações de anticorpos anti LDL(-) e imunocomplexos ac-LDL(-) observadas no nosso estudo, podem ser decorrentes do tempo do estudo de 16 semanas.

Os resultados dos poucos trabalhos publicados envolvendo as análises das mesmas partículas sugerem que estes marcadores parecem estar mais elevados em indivíduos com síndromes coronarianas agudas do que em pacientes com angina estável, possivelmente por este motivo, a resposta das intervenções mostrou-se inalterada (OLIVEIRA *et al*, 2006).

Apesar dos efeitos antioxidantes comprovadamente demonstrados dos minerais zinco e selênio (PRASAD, 2008; TINGGI, 2008), a administração destes minerais, concomitante à rosuvastatina (grupo suplementado) durante 4 meses, não influenciou nas concentrações de LDL (-) (**Tabela 9**). O efeito antioxidante da sinvastatina também não foi aumentado pela associação com suplementação de  $\alpha$ -tocoferol em pacientes com hipercolesterolemia. Do mesmo modo, as concentrações de LDL(-) permaneceram inalteradas no grupo suplementado (sinvastatina+  $\alpha$ -tocoferol) após o período do estudo (PEREIRA *et al*, 2004). Outro estudo demonstrou que a suplementação de zinco não teve efeito sobre a oxidação da LDL *in vitro* (FELLIET-COUDRAY *et al*, 2006). Destaca-se que a resistência da LDL contra a oxidação também depende da presença de outros antioxidantes atuando em conjunto, como por exemplo, a vitamina E.

Os nossos resultados podem ser, possivelmente, explicados pelo fato da maioria dos pacientes apresentarem menores concentrações de LDL(-) e *status* adequado de zinco e selênio, indicando que a suplementação poderia ocasionar somente um pequeno efeito adicional sobre estes pacientes. Outro ponto estaria relacionado aos fortes efeitos pleiotrópicos da rosuvastatina que se sobrepõem àqueles apresentados pelos minerais, ressaltando que estes efeitos apresentados pelas estatinas se sobressaem dentro de um

contexto de uma dieta equilibrada que possa suprir os nutrientes necessários para garantir a utilização do fármaco pelo organismo.

A produção de espécies reativas de oxigênio induz a atividade das enzimas antioxidantes SOD e GPx como um mecanismo protetor contra o dano oxidativo, principalmente, em situações clínicas como a aterosclerose. O efeito protetor da atividade da GPx contra a peroxidação lipídica reforça o fato de que esta enzima não somente detoxifica o  $H_2O_2$  produzido pela ação da SOD, mas também converte os hidroperóxidos lipídicos a alcoóis não-tóxicos, agindo como um potente antioxidante. Portanto, a atividade da SOD e GPx são indicadores do balanço entre a produção de espécies reativas de oxigênio e a capacidade do organismo de captação do superóxido (FÖRSTERMANN, 2008).

Além das diferenças individuais na expressão gênica, a atividade das enzimas antioxidantes depende de variações do estilo de vida, incluindo a dieta, fatores do meio ambiente, bem como imprecisão de procedimentos analíticos. As grandes discrepâncias entre as medidas de SOD e GPx observadas entre estudos, são causadas provavelmente pelas diferenças inevitáveis de pesagem e pipetagem de reagentes e ainda, os diversos métodos e *kits* que são empregados para a realização das avaliações. A atividade destas enzimas também pode variar dependendo dos tecidos e órgãos, ressaltando-se que atividade enzimática que é verificada no eritrócito não reflete, necessariamente, a defesa antioxidante de todo o organismo (ANDERSEN *et al*, 1997).

Os dados publicados sobre a associação entre a atividade de enzimas como SOD, GPx e catalase em pacientes com doenças cardiovasculares são conflitantes. Um estudo recente de metanálise que incluiu 44 artigos, cujos objetivos foram avaliar a atividade de SOD, GPx e catalase em pacientes com doença cardiovascular originária da aterosclerose, identificou uma forte e inversa correlação entre as atividades da SOD, GPx e catalase e o risco de doenças cardiovasculares, sugerindo que estes pacientes apresentam um elevado estresse oxidativo. Ressalta-se que a interpretação em termos de mecanismos e etiologia, torna-se difícil pelas limitações metodológicas dos estudos disponíveis (FLORES-MATEO *et al*, 2009).

Em relação aos resultados da atividade das enzimas SOD e GPx-1 eritrocitária apresentados pelos pacientes com aterosclerose e angina estável deste estudo (**Tabela 9**), observamos, que apesar das diferenças estatísticas significantes entre os valores do marcador de peroxidação lipídica LDL(-) entre os grupos suplementado e placebo no momento inicial, a atividade das duas enzimas foram semelhantes entre os grupos, com uma tendência a menores valores de mediana no grupo placebo, sugerindo que estes pacientes apresentavam um risco maior decorrente do estresse oxidativo. Conforme comentado anteriormente, o fato do grupo

placebo ter um percentual maior de hipertensos, ex-fumantes que abandonaram o hábito há menos tempo, menor número de usuários anteriores de estatinas (**Tabela 3**), concentrações de PCR-as mais altas (**Figura 13**), além do percentual maior de pacientes com ingestão de gordura saturada acima do recomendado (**Figura 10B**), pode justificar estes resultados, apesar da ausência de confirmação estatística.

Estudo realizado em uma população semelhante, ou seja, 643 pacientes com aterosclerose, idade  $61,7 \pm 10,1$  anos e 72% de homens, detectou resultados de medianas de atividade de GPx-1 eritrocitária comparáveis com as do presente estudo (48,3 (42,2/56,3)), tendo em vista a utilização do mesmo *kit* e método de avaliação. Os autores constataram que os maiores determinantes para a atividade da GPx foram o tabagismo, e em menores proporções, o gênero, a hiperlipidemia, os níveis de homocisteína e selênio. Observou-se que pacientes com atividade de GPx menores que a mediana, tinham concentrações plasmáticas de homocisteína significativamente maiores, aumentando em 3,2 vezes o risco de eventos cardiovasculares (SCHNABEL *et al*, 2008). Concordando com estes achados, resultados semelhantes foram encontrados em pacientes com aterosclerose, constatando-se que a diminuição da atividade da GPx-1 em eritrócitos é, independentemente, associada ao um aumento no risco de complicações cardiovasculares. Atenta-se que além do efeito antioxidante, esta enzima inibe a 5-lipoxigenase em células monocíticas, a qual, quando ativa, induz mecanismos inflamatórios relacionados à progressão de lesões ateroscleróticas (BLANKENBERG *et al*, 2003).

Mesmo diante de maiores concentrações de  $O_2^{\cdot -}$  e malonildialdeído (MDA) uma menor atividade da SOD eritrocitária foi encontrada em 188 pacientes com aterosclerose em relação ao grupo controle (n=197), ressaltando que esta atividade foi ainda menor no sub-grupo de pacientes (n=141) que apresentava estenoses de >50% em uma ou mais artérias. Os resultados sugerem que pacientes com aterosclerose apresentam alto nível de estresse oxidativo, que se constitui um dos mecanismos relacionados à inflamação, envolvidos na aterogênese (KOTUR-STEVLJEVIC *et al*, 2007). Do mesmo modo, menores atividades de GPx-1 eritrocitária foram observadas em pacientes com aterosclerose, constando-se que a atividade da enzima era menor nos pacientes com placas ateroscleróticas >50% em 3 artérias. Durante o seguimento de 6,5 anos foi identificado maior número de óbitos por doença cardiovascular e infarto no grupo com menor atividade de GPx e maior número de artérias com estenoses (ESPINOLA-KLEIN *et al*, 2007).



Evidências comprovam que pacientes com aterosclerose e angina estável, apresentam maiores concentrações plasmáticas de LDLox, menores níveis de anticorpos anti-LDLox, bem como maiores atividades das enzimas SOD e GPx em comparação com o grupo controle. Apesar destes pacientes com aterosclerose apresentarem concentrações baixas de LDL séricas, estas partículas são mais susceptíveis à oxidação, pois são mais ricas em triacilgliceróis, sugerindo que a qualidade da LDL influencia o processo oxidativo (WEINBRENNER *et al*, 2003). Este comentário chama atenção para os resultados do nosso estudo, cujos pacientes também apresentaram valores de LDL plasmática, a maioria dentro da faixa ótima, porém grande número de pacientes apresentando hipertrigliceridemia (**Tabela 7**), o que pode tornar a LDL vulnerável à oxidação.

No que se refere à relação do tratamento com rosuvastatina e a influência sobre a atividade de enzimas antioxidantes, pouco são os estudos que avaliaram os efeitos deste fármaco sobre estas variáveis. Os resultados do nosso estudo apontaram que a terapia com a rosuvastatina na dosagem de 10mg, durante 4 meses não causou alterações estatisticamente significantes na atividade das enzimas SOD e GPx em ambos os grupos suplementado e placebo (**Tabela 9**). Contrariando os nossos achados, em outra investigação constatou-se que o tratamento com a rosuvastatina 10mg durante 3 meses, provocou redução significativa da atividade da GPx e aumento da atividade da SOD, auxiliando na proteção contra o estresse oxidativo (GÓMEZ-GARCÍA *et al*, 2007).

Propõe-se que a inibição da atividade da NADPH oxidase pelas estatinas, com conseqüente redução da produção de superóxido, explica, possivelmente, o fato das atividades das enzimas SOD e GPx manterem-se inalteradas (LASSEGUE *et al*, 2001). Confirmando estas afirmações, observou-se que durante a terapia com rosuvastatina 10 e 40mg alternadamente, houve redução significativa das concentrações plasmáticas de peróxidos endógenos e atividade da peroxidase, após 12 semanas de tratamento (RESCH *et al*, 2006).

Fatores dietéticos podem influenciar a atividade das enzimas SOD e GPx, principalmente a ingestão dos minerais zinco, co-fator da SOD (PRASAD, 2004) e o selênio, envolvido na síntese de selenoproteínas como a GPx (PAPP *et al*, 2010). No nosso estudo constatou-se que, apesar da suplementação oral com 30mg de zinco e 150µg de selênio a atividade das enzimas SOD e GPx mantiveram sua atividade inalterada no grupo suplementado após os 4 meses de intervenção (**Tabela 9**). Concordando com os nossos resultados, pacientes com diabetes suplementados com 30mg de gluconato de zinco durante 6 meses, não apresentaram alterações na atividade da CuZnSOD. Ressalta-se que, semelhantemente ao observado na nossa população, o percentual de deficiência de zinco no

momento inicial foi de 30% (ANDERSON *et al*, 2001; ROUSSEL *et al*, 2003). Em contrapartida, em outro estudo constataram que a suplementação de zinco aumentou a atividade da SOD eritrocitária e plasmática em um grupo de 108 idosos saudáveis. Neste caso 54% dos indivíduos tinham concentrações plasmáticas de zinco abaixo do ideal (MARIANI *et al*, 2008<sup>b</sup>).

O papel do zinco na enzima SOD é estrutural, enquanto que o cobre está envolvido diretamente na atividade enzimática da SOD. O excesso na ingestão de zinco pode acarretar uma deficiência de cobre, tendo em vista os mecanismos de competição que ocorrem entre estes dois minerais, com conseqüente diminuição da atividade da SOD (JOHNSON; GIULIVI, 2005). No nosso estudo o fato da atividade da SOD no grupo suplementado manter-se inalterada, sugere que a quantidade de zinco administrada não foi suficiente para comprometer a biodisponibilidade do cobre. Apesar dos altos percentuais de inadequação de ingestão de zinco na dieta dos pacientes do grupo placebo, a atividade da SOD não foi comprometida, provavelmente pelos rígidos mecanismos homeostáticos do zinco pelo organismo.

Em relação à ingestão de selênio e atividade da GPx, as recomendações de ingestão deste mineral propostas pelo FNB-IOM (2000<sup>a</sup>) foram baseadas na quantidade de selênio dietético suficiente para otimizar a atividade da GPx em indivíduos saudáveis, ou seja, 55µg/dia. No entanto, especula-se que pacientes com doenças crônicas podem apresentar limiares diferentes de saturação desta enzima, tendo em vista os diversos trabalhos publicados sobre suplementação de selênio em pacientes, utilizando diferentes dosagens.

Corroborando os nossos resultados, os efeitos da suplementação com selênio em 3 formas químicas (selenito, selenometionina e levedura enriquecida com selenometionina) e em diferentes dosagens (200, 400 e 600µg/dia), também não resultou em alterações na atividade da GPx em nenhum dos grupos, independentemente da forma química e dosagem. Sugere-se que estes resultados aconteceram pelo fato dos participantes não apresentarem deficiência de selênio no início do estudo (BURK *et al*, 2006). No nosso caso, o grupo suplementado tinha percentuais de deficiência na faixa de 26%, além de menores concentrações de LDL(-), sugerindo menor risco de estresse oxidativo. Em pacientes com insuficiência renal crônica com deficiência de selênio, observou-se aumento da atividade da GPx após suplementação com 1 castanha do Brasil diária durante 3 meses, confirmando a boa biodisponibilidade do selênio presente neste alimento (STOCKLER-PINTO *et al*, 2009).

Contraditoriamente, a suplementação de 125µg/ selênio/dia tanto na forma de selenito ou levedura enriquecida com selenometionina, resultou em aumento de 30% na atividade da

GPx após 4 meses de estudo (LASSEN E HORDER, 1994). Por outro lado, tanto a suplementação de selênio 200µg/dia na forma de selenito, selenato ou selenometionina causaram aumento na atividade da GPx, porém com os suplementos orgânicos este resultado é significativo após 1 mês, e permanece durante os 3 meses seguintes de avaliação. Em se tratando das formas inorgânicas, selenito e selenato, a atividade da enzima atinge um limiar constante entre 1 e 3 meses, por mecanismos ainda não elucidados (CLAUSEN; NIELSEN, 1988). Diante de intervenções com dosagens de 200µg/dia ou 500µg/dia de selênio tem sido observada que a atividade da GPx não foi influenciada (SCHNABEL *et al*, 2008).

Algumas hipóteses são formuladas para explicar o fato dos estudos clínicos que envolvem suplementação com largas doses de antioxidantes em pacientes com doenças cardiovasculares nem sempre apresentam resultados animadores (KRITHARIDES; STOCKER, 2002; BRUCKDORFER, 2008): (1) os estudos em modelos animais normalmente avaliam o efeito da terapia antioxidante nos eventos iniciais da aterosclerose, e não em lesões avançadas como acontece nos humanos (KALIORA; SCHMIDT, 2006); (2) problemas nos critérios de seleção dos participantes em estudos de intervenção – pacientes que apresentam estresse oxidativo aumentado têm mais chance de apresentar resultados positivos em menor espaço de tempo comparados aos com menor nível (3) metodologias mais apropriadas para avaliação dos antioxidantes; (4) falta de consenso em relação à dose, tipo de antioxidante ideal, biomarcadores adequados para o monitoramento das terapias antioxidantes (MOLAVI; METHA, 2004; WILLCOX; CURB; RODRIGUEZ, 2008). Nesta contextualização também se insere o comportamento dos nossos achados.

### **6.5. Avaliação dos marcadores de inflamação: efeitos do uso da rosuvastatina e suplementação de zinco e selênio**

Mecanismos inflamatórios desempenham um papel central em todas as fases da aterosclerose, desde o recrutamento inicial de leucócitos circulantes para a parede arterial até a ruptura de placas instáveis, resultando nas manifestações clínicas da doença. A PCR está envolvida em cada um destes estágios influenciando processos como a disfunção endotelial, efeitos relacionados aos lipídios, angiogênese, apoptose, trombose, ativação do complemento, ativação e recrutamento de monócitos (MAAT;TRION, 2004). Por outro lado, a citocina pró-inflamatória IL-6, regula a produção hepática de proteínas de fase aguda, como a PCR. Esta citocina é expressa na região das placas ateroscleróticas, podendo aumentar a instabilidade das placas por influenciar a expressão de MCP-1 e TNF- $\alpha$  (ABEYWARDENA *et al*, 2009).

Alguns fatores de estilo de vida estão associados com o aumento da PCR, por exemplo, o sedentarismo e o tabagismo, bem como a adiposidade visceral (MONTEBUCCO; MACH, 2008). Além disso, nutrientes específicos como ácidos graxos polinsaturados da série  $\omega$ -3, retinol, vitamina C, folato, carotenóides e selênio têm sido inversamente associados às concentrações séricas de PCR (FORD *et al*, 2003; PISCHON *et al*, 2003).

No que diz respeito às concentrações de PCR-as dos pacientes com aterosclerose e angina estável do nosso estudo, identificou-se no momento inicial diferenças estatisticamente significantes desta variável entre os grupos suplementado e placebo, com menores valores para o grupo suplementado (**Figura 13**). Em um grupo de pacientes com angina estável semelhante ao nosso, foram verificadas grandes variações nas concentrações de PCR-as (0,1 a 0,9mg/dL), conforme observado no nosso estudo, apesar de se tratar de pacientes com as mesmas características clínicas. Distribuindo os pacientes em tercís de acordo com os valores de PCR, foi constatada uma forte correlação inversa entre a PCR e a presença de circulação colateral. Esta é uma alternativa que o organismo utiliza para promover suprimento de sangue suficiente para o miocárdio em situações de oclusões das artérias e isquemias pós-infarto do miocárdio (KERNER *et al*, 2007). Ainda corroborando os nossos resultados, Arroyo-Espliguero *et al* (2009) dividindo os pacientes com angina estável em dois grupos, com e sem eventos, encontraram medianas de PCR semelhantes ao do nosso estudo (sem eventos 0,23mg/dL[1,1-4,7], com eventos 0,3mg/dL[1,8-7,2]).

A IL-6 é considerada um marcador local e circulante de inflamação da placa coronariana. As concentrações elevadas desta citocina estão relacionadas a um prognóstico desfavorável em pacientes com aterosclerose, especialmente em pacientes com infarto agudo do miocárdio e angina instável, bem como instabilidade de lesões após angioplastia coronariana percutânea (ITO; IKEDA, 2003). Apesar das diferenças significativas nas concentrações de PCR entre o grupo suplementado e placebo no momento inicial do estudo, não se confirmaram os mesmos resultados para a IL-6 ressaltando que o grupo placebo tendeu a apresentar resultados maiores, porém, sem significância estatística (**Figura 14**). Confirmando estes achados, encontrou-se resultados de IL-6 semelhantes em pacientes com aterosclerose e angina estável que se submetiam ao tratamento de angioplastia. Confirmou-se que o procedimento de angioplastia induz a um aumento da IL-6 circulante, podendo induzir subsequente resposta inflamatória em lesões das artérias, desempenhando um papel importante na reestenose pós-angioplastia (HOJO *et al*, 2000).

Concentrações maiores de IL-6 foram confirmadas em pacientes com angina estável e funções sistólicas ventriculares esquerdas preservadas. Constatou-se ainda que os valores de

IL-6 eram maiores em pacientes com várias lesões, comparado com àqueles com lesões simples (KOSMALA *et al*, 2008). As concentrações de IL-6 tendem a serem maiores em pacientes com angina estável que apresentaram história de infarto do miocárdio (CHO *et al*, 2009).

Pesquisadores sugerem que as estatinas conferem benefícios cardiovasculares também pela sua habilidade em modular processos imuno-inflamatórios no organismo. Estes fármacos apresentam a propriedade de reduzir a adesão de células inflamatórias e recrutamento de monócitos pelas células endoteliais, alterar a migração das células musculares lisas no desenvolvimento de placas e afetar favoravelmente a matrix de metaloproteínases, levando a uma maior estabilidade de placas ateroscleróticas (DANESH *et al*, 2004; ARANUD; BRAUNERSREUTHER; MACH, 2005).

Quanto aos efeitos do tratamento com rosuvastatina 10mg, durante 4 meses nos marcadores de inflamação PCR-as e IL-6 do presente estudo, observou-se que houve redução significativa nas concentrações de PCR-as tanto no grupo suplementado quanto no grupo placebo (**Figura 13**), também comprovado em outros estudos em pacientes com aterosclerose submetidos à angioplastia, tratados com rosuvastatina (YU *et al*, 2010). Constata-se ainda que o uso da medicação anterior ao procedimento diminui significativamente o risco de problemas clínicos decorrentes da intervenção. Outros estudos reforçam estes mesmos benefícios da rosuvastatina na diminuição da PCR-as (McMURRAY *et al*, 2009; RIDKER *et al* 2009; MORA *et al*, 2010; PETERS *et al*, 2010). Propõe-se que a rosuvastatina exerce um efeito inibitório direto sobre a indução da produção de PCR pela IL-6 nas células hepáticas (MAYER *et al*, 2007).

Em relação a IL-6 houve redução em ambos os grupos, porém sem significância estatística (**Figura 14**). Considerando o fato que a IL-6 é expressa na região das placas ateroscleróticas e as medidas das concentrações desta citocina foram realizadas em amostras de sangue periférico, a resposta ao tratamento provavelmente pode acontecer mais tardiamente (ITO; IKEDA, 2003). Examinando-se os efeitos antiinflamatórios das estatinas em 950 pacientes com aterosclerose, foram encontradas menores concentrações de IL-6 após o tratamento (BICKEL *et al*, 2002). Confirmando estes achados, também o efeito positivo da terapia com atorvastatina sobre a diminuição da IL-6 também foi verificado em pacientes com aterosclerose e obesidade visceral (CHAN *et al*, 2002).

O zinco é um mineral essencial para imunidade humoral e mediada por células, além da maturação das células T por meio da timulina (PRASAD, 2009). O selênio, por outro lado, influencia nas concentrações de linfócitos T e modula a produção de citocinas (DUNTAS,

2009). Ambos os minerais estão envolvidos na inibição da ativação do NF- $\kappa$ B, regulando a expressão de vários genes, especialmente citocinas, quimiocinas e vias de sinalização relacionadas à apoptose, resposta imune e inflamatória (VASTO *et al*, 2006; DUNTAS, 2009).

No que se refere aos efeitos da suplementação de zinco e selênio associada à rosuvastatina no grupo suplementado sobre os marcadores de inflamação PCR-as e IL-6, observou-se que a redução significativa das concentrações de PCR-as aconteceu independente da suplementação, já que o mesmo comportamento foi confirmado no grupo placebo (**Figuras 13 e 14**). Estudo publicado recentemente constatou que a suplementação com 45mg zinco durante 6 meses aumentou as concentrações plasmáticas de zinco, com decréscimo nos valores de PCR-as, IL-6, sugerindo que o zinco pode ter um efeito protetor na aterosclerose devido às suas funções antioxidantes e inflamatórias (BAO *et al*, 2010).

Especula-se que a resposta à suplementação de zinco tem relação com o *background* genético pela observação que as concentrações plasmáticas de IL-6, MCP-1 e produção de células NK, poderiam ser influenciadas pelos alelos polimorfos +647MT1a e -174IL-6. Sugere-se, portanto, que o *background* genético é um dos determinantes para identificação de grupos de indivíduos que de fato se beneficiarão com intervenções terapêuticas (MARIANI *et al*, 2008<sup>a</sup>).

Nesta perspectiva, surge a importância da aplicação de ferramentas genômicas para estudar os efeitos dos nutrientes na regulação gênica (nutrigenômica), no sentido de facilitar o entendimento das relações destes nutrientes com o organismo em situações de saúde e doença. O fato dos estudos clínicos levarem a observações controversas fortalece a tese de que cada indivíduo apresenta particularidades, atribuídas aos polimorfismos genéticos, que o faz responder diferentemente ao mesmo tratamento. O avanço das pesquisas nesta área pode abrir novos horizontes para os mecanismos de prevenção das doenças cardiovasculares, por meio de dietas personalizadas baseadas em antioxidantes dietéticos (KALIORA e SCHMIDT, 2006; WILLCOX *et al*, 2008).

## 7. CONCLUSÕES

- O tratamento com rosuvastatina 10mg durante 4 meses não alterou o *status* de zinco e selênio considerando os biomarcadores avaliados.
- A suplementação de zinco e selênio não influenciou os biomarcadores de estresse oxidativo e inflamação.
- Estudos adicionais serão necessários para avaliação da necessidade de suplementação neste grupo de pacientes com aterosclerose, analisando-se outras doses, tempo de suplementação e biodisponibilidade da forma química dos minerais prescritos

**REFERÊNCIAS**

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

ABEYWARDENA, M.Y.; LEIFERT, W.R.; WARNES, K.E.; VARGHESE, J.N.; HEAD, R.J. Cardiovascular biology of interleukin-6. **Curr Pharm Des**, v. 15, n. 15, p.1809-1821, 2009.

ABRAMS, J. Chronic stable angina. **New Engl J Med**, v.352, n.24, p.2524-2533, 2005.

ADAM, O.; LAUFS, U. Antioxidative effects of statins. **Arch Toxicol**, v. 82, n. 12, p. 885-892, 2008.

ALENCAR, Y.M.G.; CARVALHO F.E.T. de; PASCHOAL, S.M.P.; CURIATI, J.A. E.; PING W.C.; LITVOC, J. Fatores de Risco para Aterosclerose em uma População Idosa Ambulatorial na Cidade de São Paulo. **Arq Bras Cardiol**, v. 74, n. 3, p. 181-188, 2000.

ALISSA, E.M; BAHJRI, S.M.; AHMED, W.H.; AL-AMA, N.; FERNS, G.A.A. Trace elements status in Saudi patients with established atherosclerosis. **J Trace Elem Med Biol**, v. 20, n.2, p. 105-114, 2006.

ALTEKIN, E.; COKER, C.; SISMAN, A.R.; ÖNVURAL, B.; KURALAY, F.; KIRIMLI, Ö. The relationship between trace elements and cardiac markers in acute coronary syndromes. **J Trace Elem Med Biol**, v. 18, p.235-242, 2005.

ANDERSEN, H.R.; NIELSEN, J.B.; NIELSEN, F.; GRANDJEAN, P. Antioxidative enzyme activities in human erythrocytes. **Clin Chem**, v. 43, n.4, p. 562-568, 1997.

ANDERSON, R.A.; ROUSSEL, A.M.; ZOUARI, N.; MAHJOUR, S.; MATHEAU, J.A.; KERKENI, A. Potencial antioxidante effects of zinc and chromium supplementation in people with type 2 diabetes mellitus. **J Am Coll Nutr**, v. 20, n.3, p.212-218, 2001.

ANDRADE, T. C. **Construindo um registro fotográfico de alimentos, preparações de interesse dietético regional/local**. 2005. 14 p. Monografia (Graduação em Nutrição). Universidade Federal do Rio grande do Norte, RN.

ANDRADE, R.G.; PEREIRA, R.A.; SICHIERI, R. Consumo alimentar de adolescentes com e sem sobrepeso do Município do Rio de Janeiro. **Cad Saúde Pública**, v.19, n.5, p. 1485-1495, 2003.



ANDREWS, G.K. Regulation of metallothionein gene expression by oxidative stress and metal ions. **Biochem Pharmacol**, v. 59, p. 95–104, 2000.

ANDRIOLLO-SANCHEZ, M.; FAVIER-HININGER, I.; MEUNIER, N.; ZACCARIA, M.; BRANDOLINI-BUNLON, M.; POLITO, A.; O'CONNOR, J.M.; FERRY, M.; COUDRAY, C.; ROUSSEL, A-M. Zinc intake and status in middle-aged and older European subjects: the ZENITH study. **Eur J Clin Nutr**, v. 59, n.2, p. S37-S41, 2005.

ANSEMI M.; GARBIN U.; AGOSTONI P.; FUSARO M.; PASINI A.F.; NAVA C.; KETA D.; TURRI M.; ZARDINI P.; VASSANELLI C.; LO CASCIO V.; COMINACINI L. Plasma levels of oxidized-low-density lipoproteins are higher in patients with unstable angina and correlated with angiographic coronary complex plaques. **Atherosclerosis**, v.185, n.1, p. 114-120, 2006.

ARAÚJO, F., PEREIRA, A.C., LATORRE, M.R., KRIEGER, J.E., MANSUR, A.J. High-sensitivity C reactive protein concentration in a healthy Brazilian population. **Int J Cardiol**, v.97, n.3, p.433-438, 2004.

ARAÚJO, M.O.D.; GUERRA, T.M.M. **Alimentos per capita**. 3ª Ed. Natal: Editora da UFRN, 2007, 323p.

ARMSTRONG, E.J.; MORROW, D.A.; SABATINE, M.S. Inflammatory biomarkers in acute coronary syndromes. Part I: Introduction and cytokines. **Circulation**, v.113, p.72-75, 2006.

ARNAUD, C.; BRAUNERSREUTHER, V., MACH, F. Toward immunomodulatory and anti-inflammatory properties of statins. **Trends Cardiovasc Med**, v. 15, n.6, p. 202-206, 2005.

ARNAUD, J.; AKBARALY, T.; HININGER, I.; ROUSSEL, A.M.; BERR, C. Factors associated with longitudinal plasma selenium decline in the elderly: The EVA study. **J Nutr Biochem**, v. 18, n. 7, p. 482-487, 2007.

ARNAUD, J.; AKBARALY, T.; HININGER, I.; BERR, C.; ROUSSEL, A.M. Fibrates but not statins increase plasma selenium in dyslipidemic aged patients – The EVA study. **J Trace Elem Med Biol**, v. 23, p. 21-28, 2009.

ARROYO-ESPLIGUERO, R.; AVANZAS, P.; QUILES, J.; KASKI, J.C. Predictive value of coronary artery stenoses and C-reactive protein levels in patients with stable coronary artery disease. **Atherosclerosis**, v.204, n.1, p. 239-243, 2009.

ASHTON, K.; HOOPER, L.; HARVEY, L.J.; HURST, R.; CASGRAIN, A.; FAIRWEATHER-TAIT, S.J. Methods of assessment of selenium status in humans: a systematic review. **Am J Clin Nutr**, v.89, n.6, p.2025S-2039S, 2009.

ATHYROS, V.G.; KAKAFIKA, A.I.; TZIOMALOS, K.; KARAGIANNIS, A.; MIKHAILIDIS, D.P. Pleiotropic effects of statins--clinical evidence. **Curr Pharm Des**, v.15, n. 5, p. 479-89, 2009.

ATKINS, GB; JAIN, MK. Role of Krüppel-Like Transcription Factors in Endothelial Biology. **Circ Res**, v.100, p. 1686-1695, 2007.

AUER, J.; BERENT, R.; LASSING, E.; EBER, B. C-reactive protein and coronary artery disease. **Jpn Heart J**, v. 43, p.607-619, 2002.

AVIRAM, M.; HUSSEIN, O.; ROSENBLAT, M.; SCHLEZINGER, S.; HAYEK, T.; KEIDAR, S.; Interactions of platelets, macrophages, and lipoproteins in hypercholesterolaemia: anti-atherogenic effects of HMG-CoA reductase inhibitor therapy. **J Cardiovasc Pharmacol**, v. 31, n. 1, p. 39-45, 1998.

BAE, Y.S.; LEE, J.H.; CHOI, S.H.; KIM, S.; ALMAZAN, F.; WITZTUM, J.L.; MILLER, Y.I. Macrophages generate reactive oxygen species in response to minimally oxidized LDL: TLR4- and Syk-dependent activation of Nox2. **Circ Res**. v. 104, n. 2, p. 210–218, 2009.

BALLANTYNE, C.M.; MILLER, E.; CHITRA, R. Efficacy and safety of rosuvastatin alone and in combination with cholestyramine in patients with severe hypercholesterolemia: a randomized, open-label, multicenter trial. **Clin Ther**, v. 26, n. 11, p. 1855-1864, 2004.

BALLANTYNE, C.M.; RAICHLIN, J.S.; CAIN, V.A. Statin therapy alters the relationship between apolipoprotein B and low-density lipoprotein cholesterol and non-high-density lipoprotein cholesterol targets in high-risk patients: the MERCURY II (Measuring Effective Reductions in Cholesterol Using Rosuvastatin) trial. **J Am Coll Cardiol**, v. 52, n. 8, p. 626-632, 2008<sup>a</sup>.

BALLANTYNE, C.M.; RAICHLIN, J.S.; NICHOLLS, S.J.; ERBEL, R.; TARDIF, J.C.; BRENER, S.J.; CAIN, V.A.; NISSEN, S.E. ASTEROID Investigators. Effect of rosuvastatin therapy on coronary artery stenoses assessed by quantitative coronary angiography: a study to evaluate the effect of rosuvastatin on intravascular ultrasound-derived coronary atheroma burden. **Circulation**, v.117, n. 19, p. 2458-2466, 2008<sup>b</sup>.

BAO, B.; PRASAD, A.S.; BECK.F.W.; GODMERE, M. Zinc modulates mRNA levels of cytoquines. **Am J Physiol Endocrinol Metab**, v.285, p.1095-1102, 2003.

BAO, B.; PRASAD, A.S. BECK, F.W.; FITZGERALD, .JT.; SNELL, D.; BAO, G.W.; SINGH, T.; CARDOZO, L.J. Zinc decreases C-reactive protein, lipid peroxidation, and inflammatory cytokines in elderly subjects: a potential implication of zinc as an atheroprotective agent. **Am J Clin Nutr**, v.91, n.6, p. 1634-1641, 2010.

BATISTA, M.N.N; CANZIANI, M.E.F.; PEDROSA, L.F.C.; ALMEIDA, M.G; ALMEIDA, J.B.; MEDEIROS, A.C.Q., CUPPARI, L. Effect os end-stage renal disease and diabetes on zinc and cooper status. **Biol Trace Elem Res**, v. 113, n.1, p.1-12, 2006.

BECKETT, G.J.; ARTHUR, J.R. Selenium and endocrine systems. **J Endocrinol**, v. 184, p.455-465, 2005.

BELBRAOUE, S.; BIAUDET,H.; TÉBI, A.; CHAU, N.; GRAY-DONALD, K.; DEBRY, G. Serum zinc and copper status in hospitalized vs. healthy elderly subjects. **J Am Coll Nutr**, v.26, n.6, p. 650-654, 2007.

BETTERIDGE, D.J.; GIBSON, J.M.; SAGER, P.T. Comparison of effectiveness of rosuvastatin versus atorvastatin on the achievement of combined C-reactive protein (<2 mg/L) and low-density lipoprotein cholesterol (< 70 mg/dL) targets in patients with type 2 diabetes mellitus (from the ANDROMEDA study). **Am J Cardiol**, v. 100, n. 8, p. 1245-1248, 2007.

BEATTIE, J. H.; KWUN, I. N. Is zinc deficiency a risk factor for atherosclerosis? **Br J Nutr**, v. 91, p. 177-181, 2004.

BERLINER, J.A.; TERRITO, M.C.; SEVANIAN, A.; RAMIN, S.; KIM, J.A.; BAMSHAD, B.; ESTERSON, M.; FOGELMAN, A.M. Minimally modified low density lipoproteins stimulates monocyte endothelial interactions. **J Clin Invest**, v. 85, p.1260-1266, 1990.

BIASUCCI, L.; LUIZZO, G.; FANTUZZI, G.; CALIGIURI, G.; REBUZZI, A.; GINNETTI, F.; DINARELLO, C.; MASERI, A. Increasing levels of interleukin (IL)-1Ra and IL-6 during the first 2 days of hospitalization in unstable angina are associated with increased risk of in-hospital coronary events. **Circulation**, v.99, p.2079-2084, 1999.

BICKEL, C.; RUPPRECHT, H.J.; BLANKENBERG, S.; ESPINOLA-KLEIN, C.; RIPPIN, G.; HAFNER, G.; LOTZ, J.; PRELLWITZ, W.; MEYER, J. AtheroGene Group. Influence of HMG-CoA reductase inhibitors on markers of coagulation, systemic inflammation and soluble cell adhesion. **Int J Cardiol**, v. 82, n. 1, p. 25-31, 2002.

BLANKENBERG, S.; RUPPRECHT, H.J.; BICKEL, C.; TORZEWSKI, M.; HAFNER, G.; TIRET, L.; SMIEJA, M.; CAMBIEN, F.; MEYER, J.; LACKNER, K.J. Glutathione peroxidase 1 activity and cardiovascular events in patients with coronary artery disease. **N Eng J Med**, v. 349, n.17, p.1605-1613, 2003.

BLEYS, J.; MILLER, E.R.; PASTOR-BARRIUSO, R.; APPEL, L.J.; GUALLER, E. Vitamin-mineral supplementation and the progression of atherosclerosis: a meta-analysis of randomized controlled trials. **Am J Clin Nutr**, v. 84, p. 880-887, 2006.

BLEYS, J.; NAVAS-ACIEN, A.; LACLAUSTRA, M.; PASTOR-BARRIUSO, R.; MENKE, A.; ORDOVAS, J.; STRANGES, S.; GUALLAR, E. Serum selenium and peripheral arterial disease: results from the national health and nutrition examination survey, 2003-2004. **Am J Epidemiol**, v. 169, n. 8, p. 996-1003, 2009.

BONETTI, P.O.; LERMAN, L.O.; LERMAN, A. Endothelial dysfunction: a marker of atherosclerotic risk. **Arterioscler Thromb Vasc Biol**, v. 23, p.168-175, 2003.

BONOMINI, F.; TENGATTINI, A.; BIANCHI, F.R.; REZZANI, R. Atherosclerosis and oxidative stress. **Histol Histopathol**, v. 23, p.381-390, 2008.

BOPP, M.; BARBIERO, S. Prevalência de síndrome metabólica em pacientes de um Ambulatório do Instituto de Cardiologia do Rio grande do Sul. **Arq.Bras.Cardiol**.v.93,n.5,p.473-477, 2009.

BOR, M.V.; CEVIK, C.; USLU, L.; GÜNERAL, F.; DÜZGÜN, E. Selenium levels and glutathione peroxidase activities in patients with acute myocardial infarction. **Acta Cardiol**, v.54, n.5, p.271-276, 1999.

BOTTORFF, M.B. Statin safety and drug interactions: Clinical implications. **Am J Cardiol**, v. 97,p. 27C-31C, 2006. (suppl)

BRASIL, MINISTÉRIO DA SAÚDE. Departamento de Informática do SUS (DATASUS). **Informações de saúde**. 2009. Disponível em <http://w3.datasus.gov.br/datasus/index.php>

\_\_\_\_\_. **Diretrizes e normas regulamentadoras de pesquisas envolvendo seres humanos** (Informe epidemiológico do SUS – Conselho Nacional de Saúde – Resolução 196) Ano V, n.2, abr/jun, 1996.

\_\_\_\_\_. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Análise de Situação de Saúde. **Vigilância em saúde: dados e indicadores selecionados**. Brasília: Ministério da Saúde, n.4, 2006.

BROWN, K.M.; ARTHUR, J.R. Selenium, selenoproteins and human health: a review. **Public Health Nutr**, v.4, n.2B, p. 593-599, 2001.

BRUCKDORFER, K.R. Antioxidants and CVD. **Proc Nutr Soc**, v. 67, n. 2, p. 214-222, 2008.

BRENNEISEN, P.; STEINBRENNER, H.; SIES, H. Selenium, oxidative stress, and health aspects. **Mol Aspects Med**, v. 26, n.4-5, p. 256-267, 2005.

BRIGELIUS-FLOHÉ, R.; BANNING, A.; SCHURR, K. Selenium-dependent enzymes in endothelial cell function. **Antiox & Redox Sign**, v. 5, n. 2, p. 205-215, 2003.

BURK, R.F.; LEVANDER, O.A. Selenium. In: SHILS, M.E., OLSON, J.A., SHIKE, M.; ROSS, A.C. **Modern nutrition in health and disease**, 9.ed, Philadelphia : Lippincott Williams & Wilkins, 1999. cap. 14, p.265-276.

BURK, R.F.; NORSWORTHY, B.K.; HILL, K.E.; MOTLEY, A.K.; BYRNE, D.W. Effects of chemical form of selenium on plasma biomarkers in a high-dose human supplementation trial. **Cancer Epidemiol Biomarkers Prev**, v. 15, n.4, p. 804-810, 2006.

CABAÑERO, A.I.; MADRID, Y.; CAMARA, C. Mercury-selenium species ratio representative fish samples and their bioaccessibility by an in vitro digestion method. **Biol Trace Elem Res**, v. 119, p. 195-211, 2007.

CAHOON, W.D.; CROUCH, M.A. Preprocedural statin therapy in percutaneous coronary intervention. **Ann Pharmacother**, v. 41, n.10, p. 1687-1693, 2007.

CALABRÒ, P.; GOLIA, E.; YEH, E.T.H. CRP and the risk of atherosclerotic events. **Semin Immunopathol**, v. 31, p. 79-94, 2009.

CARDOSO, B.R.; ONG, T.P.; JACOB-FILHO, W.; JALUUL, O.; FREITAS, M.I.A.; COZZOLINO, S.M.F. Nutritional status of selenium in Alzheimer's disease patients. **Br J Nutr**, v. 103, n.6, p. 803-806, 2010.

CARVALHO, G. Q.; ALFENAS, R.C.G. Índice glicêmico: uma abordagem crítica acerca de sua utilização na prevenção e no tratamento de fatores de risco cardiovasculares. **Rev Nutr**, v. 21, n. 5, p. 577-587, 2008.

CASLAKE, M.J.; STEWART, G.; DAY, S.P.; DALY, E.; MCTAGGART, F.; CHAPMAN, M.J.; DURRINGTON, P.; LAGGNER, P.; MACKNESS, M.; PEARS, J.; PACKARD, C.J. Phenotype-dependent and -independent actions of rosuvastatin on atherogenic lipoprotein subfractions in hyperlipidaemia. **Atherosclerosis**, v. 171, n. 2, p. 245-253, 2003.

CAZZOLATO, G.; AVOGARO, P.; BITTOLO-BON, G. Characterization of more electronegatively charged LDL subfraction by íon Exchange HPLC. **Free Rad Biol & Med**, v. 11, p. 247-253, 1991.

CESAR, T.B; WADA, S.R.; BORGES, R.G. Zinco plasmático e estado nutricional em idosos. **Rev Nutr**, v.18, n.3, p. 357-365, 2005.

CHANG, M.K; BINDER, C.J.; TORZEWSKI, M, WITZTUM, J. C-reactive protein binds to both oxidized LDL and apoptotic cells through recognition of a common ligand: Phosphorylcholine of oxidized phospholipids.**Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 99, n.20, p. 13043-13048, 2002.

CHAN, D.C.; WATTS, G.F.; BARRETT, P.H.; BEILIN, L.J.; MORI, T.A. Effect of atorvastatin and fish oil on plasma high-sensitivity C-reactive protein concentrations in individuals with visceral obesity. **Clin Chem**, v. 48, n. 6, p. 877-883, 2002.

CHAPMAN, M.J.; McTAGGART, F. Optimizing the pharmacology of statins: characteristics of rosuvastatin. **Atheroscl Suppl**, v. 2, n. 4, p. 33-37, 2002.

CHENG, C.H.; JIANG, T.; YANG, J.H.; JIANG, W.; LU, J.; MARATHE, G.K.; POWNALL, H.J.; BALLANTYNE, C.M.; McINTYRE, T.M.; HENRY, P.D.; YANG, C.Y. Low-density lipoprotein in hypercholesterolemic human plasma induces vascular endothelial cell apoptosis by inhibiting fibroblast growth factor 2 transcription. **Circulation**, v. 107, p.2102-2108, 2003.

CHEUNG, M.C.; WOLFBAUER, G.; KENNEDY, H.; BROWN, B.G.; ALBERS, J.J. Plasma phospholipid transfer protein activity in patients with low HDL and cardiovascular disease treated with simvastatin and niacin. **Biochim Biophys Acta**, v.28, n.1537(2), p. 117-124, 2001 .

CHO, K.H.; SHIN, D.G.; BAEK, S.H.; KIM, J.R. Myocardial infarction patients show altered lipoprotein properties and functions when compared with stable angina pectoris patients. **Exp Mol Med**, v. 41, n.2, p. 67-76, 2009.

CHOI S.H.; HARKEWICZ, R.; LEE, J.H.; BOULLIER, A.; ALMAZAN, F.; LI, A.C.; WITZTUM, J.L.; BAE, Y.S.; MILLER, Y.I. Lipoprotein accumulation in macrophages via toll-like receptor-4-dependent fluid phase uptake. **Cir Res**, v. 104, p.1355-1363, 2009.

CLAUSEN, J.; NIELSEN, S.A. Comparison of whole blood selenium values and erythrocyte glutathione peroxidase activities of normal individuals on supplementation with selenate,

selenite, L-selenomethionine, and high selenium yeast. **Biol Trace Elem Res**, v. 15, p. 125-138, 1988.

COLOMBO, R.C.R.; AGUILLAR, O.M.; GALLANI, M.C.B.J., GOBATO, C.A. Caracterização da obesidade em pacientes com infarto do miocárdio. **Rev Lat Am Enfermagem**, v.11, n.4, p.461-467, 2003.

COMBS Jr, G.F. Selenium in global food systems. **Bri J Nutr**, v. 85, p. 517-547, 2001.

COMINACINI L.; ANSEMI M.; GARBIN U.; FRATTA PASINI A.; STRANIERI C.; FUSARO M.; NAVA C.; AGOSTONI P.; KETA D.; ZARDINI P.; SAWAMURA T.; LO CASCIO V. Enhanced plasma levels of oxidized low-density lipoprotein increase circulating nuclear factor-kappa B activation in patients with unstable angina. **J Am Coll Cardiol**, v.46, n.5, p. 799-806, 2005.

COSTERELLI, L.; MUTI, E.; MALAVOLTA, M.; GIACCONI, R.; CIPRIANO, C.; SARTINI, D.; EMANUELLI, M.; SILVESTRINI, M.; PROVINCIALI, L.; GOBBI, B.; MOCCHEGIANI, E. Modulation of genes involved in zinc homeostasis in old low-grade atherosclerotic patients under effects of HMG-CoA reductase inhibitors. **Rejuvenation Res**, v.11, n. 2, p. 287-291, 2008.

CRAGG, R.A.; PHILLIPS, S.R.; PIPER, J.M.; VARMA, J.S.; CAMPBELL, MATHERS, J.C.; FORD, D. Homeostatic regulation of zinc transporters in the human small intestine by dietary zinc supplementation. **Gut**, v.54, n.4, p.469-478, 2005.

CROUSE, J.R.3rd; RAICHLIN, J.S.; RILEY, W.A.; EVANS, G.W.; PALMER, M.K.; O'LEARY, D.H.; GROBBEE, D.E.; BOTS, M.L. METEOR STUDY GROUP. Effect of rosuvastatin on progression of carotid intima-media thickness in low-risk individuals with subclinical atherosclerosis: the METEOR Trial. **JAMA**, v.28, n. 12, p. 1344-1353, 2007.

CUSHING S.D.; BERLINER, J.A.; VALENTE, A.J.; TERRITO, M.C.; NAVAB, M.; PARHAMI, F.; GERRITY, R.; SCHWARTZ, C.J.; FOGELMAN, A.M. Minimally modified low density lipoprotein induces monocyte chemotactic protein 1 in human endothelial cells and smooth muscle cells. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 87, p. 5134-5138, 1990.

DAMASCENO, N.R.; SEVANIAN, A.; APOLINARIO, E.; OLIVEIRA, J.M.; FERNANDES, I.; ABDALLA, D.S.P. Detection of electronegative low density lipoprotein (LDL-) in plasma and atherosclerotic lesions by monoclonal antibody-based immunoassays. **Clin Biochem**, v. 39, n.1, p.28-38, 2006.

DANESH, J.; KAPTOGE, S.; MANN, A.G.; SARWAR, N.; WOOD, A.; ANGLEMAN, S.B.; WENSLEY, F.; HIGGINS, J.P.; LENNON, L.; EIRIKSDOTTIR, G.; RUMLEY, A.; WHINCUP, P.H.; DAVIGNON, J. Beneficial cardiovascular pleiotropic effects of statins. **Circulation**, v. 109 (suppl1), p. 39-43, 2004.

de CASTELLARNAU, C.; SÁNCHEZ-QUESADA, J.L.; BENÍTEZ, S.; ROSA, R.; CAVEDA, L.; VILA, L.; ORDÓÑEZ-LLANOS, J. Electronegativa LDL from normolipemic subjects induces IL-8 and monocyte chemotactic protein secretion by human endothelial cells. **Arterioscler Thromb Vasc Biol**, v. 20, p. 2281-2287, 2000.

DEEDWANIA, P.C.; HUNNINGHAKE, D.B.; BAYS, H.E.; JONES, P.H.; CAIN, V.A.; BLASETTO, J.W.; STELLAR STUDY GROUP. Effects of rosuvastatin, atorvastatin, simvastatin, and pravastatin on atherogenic dyslipidemia in patients with characteristics of the metabolic syndrome. **Am J Cardiol**, v. 95, n.3, p. 360-366, 2005.

de MAAT, M.P.M.; TRION, A. C-reactive protein as a risk factor versus risk marker. **Curr Opin Lipidol**, v. 15, p.651-657, 2004.

DEVIRGILIIS, C.; ZALEWSKI, P.D.; PEROZZI, G.; MURGIA, C. Zinc fluxes and zinc transporter genes in chronic diseases. **Mutat Res**, v.622, n. 1-2, p. 84-93, 2007.

DHINGRA, S.; BANSAL, M.P. Attenuation of LDL receptor gene expression by selenium deficiency during hypercholesterolemia. **Mol Cell Biochem**, v. 282, p. 75-82, 2006<sup>a</sup>.

DHINGRA, S.; BANSAL, M.P. Hypercholesterolemia and tissue-specific differential mRNA expression of type -1 5'-iodothyronine deiodinase under different selenium status in rats. **Biol Res**, v. 39, p. 307-319, 2006<sup>b</sup>.

DHINGRA, S.; BANSAL, M.P. Hypercholesterolemia and LDL receptor mRNA expression: modulation by selenium supplementation. **BioMetals**, v. 19, p. 493-501, 2006<sup>c</sup>.

DHINGRA, S.; BANSAL, M.P. Modulation of hypercholesterolemia-induced alterations in apolipoprotein B and HMG-CoA reductase expression by selenium supplementation. **Chem Biol Interact**, v.161, n.1, p. 49-56, 2006<sup>d</sup>.

DRAKE, E.N. Cancer chemoprevention: selenium as a prooxidant, not an antioxidant. **Med Hypotheses**, v. 67, n.2, p. 318-322, 2006.

DOBBELSTEYN C.J., JOFFRES M.R., MACLEAN DR, FLOWERDEW G. The Canadian Heart Health Surveys Research Group. A comparative evaluation of waist circumference,



waist-to-hip ratio and body mass index as indicators of cardiovascular risk factors. The Canadian Heart Health Surveys. **Int J Obes**, v.25, n.5, p.652-661, 2001.

DUMONT, E.; VANHAECKE, F.; CORNELIS, R. Selenium speciation from food source to metabolites: a critical review. **Anal Bioanal Chem**, v.385, p.1304-1323, 2006.

DUNTAS, L.H. Selenium and inflammation: underlying anti-inflammatory mechanisms. **Horm Metab Res**, v. 41, p. 443-447, 2009.

EBY, G.A.; HALCOMB, W.W. High-dose zinc to terminate angina pectoris: a review and hypothesis for action by ICAM inhibition. **Med Hypotheses**, v. 66, n.1, p. 169-172, 2006.

ENDRES, M. Statins: Potential of indications in inflammatory conditions. **Atheroscl Suppl**, v.7, p.31-35, 2006.

ESPINOLA-KLEIN, C.; RUPPRECHT, H.J.; BICKEL, C.; SCHNABEL, R.; GENTH-ZOTZ, S.; TORZEWSKI, M.; LACKNER, K.; MUNZEL, T.; BLANKENBERG, S.; for the *AtheroGene* Investigators. Glutathione peroxidase-1 activity, atherosclerotic burden, and cardiovascular prognosis. **Am J Cardiol**, v. 99, n.6, p. 808-812, 2007.

FAIRWEATHER-TAIT, S.; HARVEY, L.J.; FORD, D. Does ageing affect zinc homeostasis and dietary requirements? **Exp Gerontol**, v. 43, n. 5, p. 382-388, 2008.

FAIRWEATHER-TAIT, S.; COLLINGS, R.; HURST, R. Selenium bioavailability: current knowledge and future research requirements. **Am J Clin Nutr**, v.91, n.5, p.1484S-1491S, 2010.

FAN, J.; WATANABE, T. Inflammatory reactions in the pathogenesis of atherosclerosis. **J Atheroscler Thromb**, v. 10, p. 63-71, 2003.

FAULIN, T.E.S.; SENA, K.C.M.; TELLES, A.E.R.; GROSSO, D.M.; FAULIN, E.J.B.; ABDALLA, D.S.P. Validation of a novel ELISA for measurement of electronegative low density lipoprotein. **Clin Chem Lab Med**, v. 46, n. 12, p. 1769-1775, 2008.

FEILLET-COUDRAY, C.; MEUNIER, N., DOMINIQUE, B.; BRANFOLINI-BUNLON, M.; ANDRIOLLO-SANCHEZ, M.; O'CONNOR, J.M.; MAIANI, G.; ROUSSEL, A.M.; MAZUR, A.; COUDRAY, C. Effect of zinc supplementation on *in vitro* copper-induced oxidation of low-density lipoproteins in healthy French subjects aged 55-70 years: the Zenith Study. **Br J Nutr**, v. 95, n.6, p. 1134-1142, 2006.

FENSTER, B.E.; TSAO, P.S.; ROCKSON, S.G. Endothelial dysfunction: clinical strategies for treating oxidant stress. **Am Heart J**, v. 146, p.218-226, 2003.

FERENCIK, M.; EBRINGER, L. Modulatory effects of selenium and zinc on immune system. **Folia Microbiol**, v. 48, n. 3, p. 417-426, 2003.

FERNANDES, M.P; PAES, C.; NOGUEIRA, C.; SOUZA, G.; AQUINO, L.; BORGES, F.; RAMALHO, A. Perfil de consumo de nutrientes antioxidantes em pacientes com síndrome metabólica. **Rev Ciencias Med**, v. 16, n.4-6, p. 209-219, 2007.

FERON, I.M.; FAUX, S.P. Oxidative stress and cardiovascular disease: novel tools give (free) radical insight. **J Mol Cell Cardiol**, v.47, p.372-381, 2009.

FERREIRA, K.S.; GOMES, J.C.; BELLATO, C.R.; JORDÃO, C.P. Concentrações de selênio em alimentos consumidos no Brasil. **Pan Am J Public Health**, v.11, n.3, p. 172-176, 2002.

FERRI, C.; CROCE, G.; COFINI, V.; de BERARDINIS, G.; GRASSI, D.; CASALE, R.; PROPERZI, G.; DESIDERI, G. C- reactive protein : interaction with vascular endothelium and possible role in human atherosclerosis. **Curr Pharm Des**, v. 13, p. 1631-1645, 2007.

FISBERG, R.M.; VILLAR, B.S. **Manual de receitas e medidas caseiras para cálculo de inquéritos alimentares**. Signus: São Paulo, 2002. 67p.

FLORES-MATEO, G.; NAVAS-ANCIEN, A.; PASTOR-BARRIUSO, R.; GUALLAR, E. Selenium and coronary heart disease: a meta-analysis. **Am J Clin Nutr**, v. 84, p. 762-773, 2006.

FLORES-MATEO, G.; CARRILO-SANTISTEVE, P.; ELOUSA, R.; GUALLAR, E.; MARRUGAT, J.; BLEYES, J.; COVAS, M.I. Antioxidant enzyme activity and coronary heart disease: meta-analyses of observational studies. **Am J Epidemiol**, v. 170, n.2, p.135-147, 2009.

FOOD AND NUTRITION BOARD; INSTITUTE OF MEDICINE. Selenium \_\_\_\_ In: **Dietary reference intakes for vitamin C, vitamin E, selenium and carotenoids**. Washington, DC: National Academy Press. 2000<sup>a</sup>. Cap.7, p. 284-324.

\_\_\_\_\_. **Dietary reference intakes: applications in dietary assessment**. Washington, DC: National Academy Press. 2000<sup>b</sup>. p. 1-285.

\_\_\_\_\_. Energy \_\_\_\_ In: **Dietary reference intakes for Energy, Carbohydrate, Fiber, Fat, Fatty Acids, Cholesterol, Protein, and Amino Acids (Macronutrients)**. Washington, DC: National Academy Press. 2005. Cap.5, p. 107-264.

\_\_\_\_\_. Zinc \_\_\_\_ In: **Dietary reference intakes for vitamin A, vitamin K, arsenic, boron, chromium, cooper, iodine, manganese, molybdenum, nickel, silicon, vanadium and zinc**. Washington, DC: National Academy Press. 2001. Cap.12, p. 1-47.

FORD, E.S.; LIU, S.; MANNINO, D.M.; GILES, W.H.; SMITH, S.J. C-reactive protein concentration and concentrations of blood vitamins, carotenoids, and selenium among United States adults. **Eur J Clin Nutr**, v.57, n.9, p. 1157-1163, 2003.

FÖRSTERMANN, U. Oxidative stress in vascular disease: cause, defense mechanisms and potential therapies. **Nat Clin Pract Cardiovasc Med**, v. 5, n.6, p.338-349, 2008.

FOSTER,M.; PETOCZ, P.; SAMMAN, S. Effects of zinc on plasma lipoprotein cholesterol concentrations in humans: A meta-analysis of randomized controlled trials. **Atherosclerosis** v.210, n.2, p. 344-352, 2010.

FRASSINETTI, S.; BRONZETTI, G.; CALTAVUTURO, L.; CINI, M.; CROCE, C.D. The role of zinc in life: a review. **J Environ Pathol Toxicol Oncol**, v.25, n.3, p. 597-610, 2006.

GANDIA, P.; BOUR, D.; MAURETTE, J.M.; DONAZZOLO, Y.; DUCHÈNE, P.; BÉJOT, M.; HOUIN, G. A bioavailability study comparing two oral formulations containing zinc (Zn bis-glycinate vs. Zn gluconate) after a single administration to twelve healthy female volunteers. **Int J Vitam Nutr Res**, v.77, n.4, p. 243-248, 2007.

GAMMERLGAARD, B.; GABEL-JENSEN, C.; STÜRUP, S.; HANSEN, H.R. Complementary use of molecular and element-specific mass spectrometry for identification of selenium compounds related to human selenium metabolism. **Anal Bioanal Chem**, v. 390, p. 1691-1706, 2008.

GERALDO, J.M.; ALFENAS R.C.G. Papel da dieta na prevenção e no controle da inflamação crônica - evidências atuais. **Arq Bras Endocrinol Metab**, v.52, n. 6, p. 951-967, 2008.

GHAYOUR-MORBARHAN,M.; LAMB, D.J.; TAYLOR, A.; VAIDYA, N.; LIVINGSTONE, C.; WANG, T; FERNS, G.A.A. Effect of statin therapy on serum trace element status in dyslipidemic subjects. **J Trace Elem Med Biol**, v.19, p.61-67, 2005.

GHAYOUR-MORBARHAN, M.; TAYLOR, A.; KAZEMI-BAJESTANI, S.M.R.; LANHAM-NEW, S.; LAMB, D.J.; VAIDYA, N.; LIVINGSTONE, C.; WANG, T.; FERNS, G.A.A. Serum zinc and copper status in dyslipidemic patients with and without established coronary artery disease. **Clin Lab**, v. 54, p.321-329, 2008.

GIACCONI, R.; CIPRIANO, C.; ALBANESE, F.; BOCCOLI, G.; SABA, V.; OLIVIERI, F.; FRANCESCHI, C.; MOCCHEGIANI, E. The -174G/C polymorphism of IL-6 is useful to screen old subjects at risk for atherosclerosis or to reach successful ageing. **Exp Gerontol**, v. 39, n.4, p. 621-628, 2004.

GIACCONI, R.; MUTI, E.; MALAVOLTA, M.; CIPRIANO, C.; COSTARELLI, L.; BERNARDINI, G.; GASPARINI, N.; MARIANI, E.; SABA, V.; BOCCOLI, G.; MOCCHEGIANI, E. The +838 C/G MT2A polymorphism, metals, and the inflammatory/immune response in carotid artery stenosis in elderly people. **Mol Med**, v. 13, n.7-8, p. 388-395, 2007.

GIACCONI, R.; CARUSO, C.; MALAVOLTA, M.; DOMENICO, L.; BALISTRERI, C.R.; SCOLA, L.; CANDORE, G.; MUTI, E.; MOCCHEGIANI, E. Pro-inflammatory genetic background and zinc status in old atherosclerotic subjects. **Ageing Res Rev**, v.7, n.4, p. 306-318, 2008.

GIANNOTTI, G.; LANDMESSER, U. Endothelial dysfunction as an early sign of atherosclerosis. **Herz**, v.32, p. 568-572, 2007.

GIBSON, C.M.; PRIDE, Y.B.; HOCHBERG, C.P.; SLOAN, S.; SABATINE, M.S.; CANNON, C.P.; TIMMI Study Group. Effect of intensive statin therapy on clinical outcomes among patients undergoing percutaneous coronary intervention for acute coronary syndrome. PCI-PROVE IT: A PROVE IT-TIMI 22 (Pravastatin or Atorvastatin Evaluation and Infection Therapy-Thrombolysis In Myocardial Infarction 22) Substudy. **J Am Coll Cardiol**, v. 54, n.24, p. 2290-2295, 2009.

GIBSON, R.S. Assessment of trace-elements status. In: GIBSON, R.S. **Principles of nutritional assessment**. Oxford, p.542-553, 1990.

GIBSON, R.S.; HESS, S.Y.; HOTZ, C.; BROWN, K.H. Indicators of zinc status at population level: a review of the evidence. **Br J Nutr**, v.99, n.3, p.S14-S23, 2008. (suppl).

GIELEN, S.; SANDRI, M.; SCHULER, G.; TEUPSER, D. Risk factor management: antiatherogenic therapies. **Eur J Cardiovasc Prev Rehabil**, v. 16, n.2, p. S29-S36, 2009. (suppl).

GIRODON, F.; GALAN, P.; MONGET, A.L.; BOUTRON-RUAULT, M.C.; BRUNET-LECOMTE, P.; PREZIOSI, P.; ARNAUD, J.; MANUGUERRA, J.C.; HERCHBERG, S. Impact of trace elements and vitamin supplementation on immunity and infections in institutionalized elderly patients: a randomized controlled trial. MIN. VIT. AOX. geriatric network. **Arch Intern Med**, v. 159, n.7, p.748-754,1999.

GÓMEZ-GARCÍA, A.; TORRES, G.M.; ORTEGA-PIERRES, L.E.; RODRÍGUEZ-AYALLA, E.; ÁLVAREZ-AGUILLAR, C. Rosuvastatin and metformin decrease inflammation and oxidative stress in patients with hypertension and dyslipidemia. **Rev. Esp. Cardiol.**, v.60, n.12, p.1242-1249, 2007.

GONZAGA, I. **Avaliação nutricional relativa ao selênio em crianças com dieta enriquecida de castanha-do-Brasil (*Bertholletia excelsa*, H. B. K.)**. São Paulo, 2002. 161 f. Tese - (Doutorado em Ciência de Alimentos), Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo. São Paulo: USP, 2002.

GONZAGA, I.B.; MARTENS, A.; COZZOLINO, S.M.F. Selênio. In: COZZOLINO, S.M.F.. **Biodisponibilidade de nutrientes**, 1ª ed, Manole: São Paulo, 2005. Cap 26, p.539-577.

GONZÁLEZ, S.; HUERTA, J.M.; ÁLVAREZ-URÍA, J.; FERNÁNDEZ, S.; PATTERSON, A.M.; LASHERAS, C. Serum selenium is associated with plasma homocysteine concentrations in elderly humans. **J Nutr**, v. 134, p. 1736-1740, 2004.

GONZÁLEZ, S.; HUERTA, J. M.; FERNÁNDEZ, S.; PATTERSON, D. M.; LASHERAS, C. Food intake and serum selenium concentration in elderly people. **Ann Nutr Metabo**, v. 50, n.2, p.126-131, 2006.

GOTTLEIB, M.G; SCHWANKE, C.H.; SANTOS, A.F; JOBIM, P.F.; MUSSEL, D.P.; CRUZ,I.B. Association among oxidized LDL levels, MnSOD, apolipoprotein E polymorphisms, and cardiovascular risk factors in a south Brazilian region population. **Genet Mol Res**, v.4, n.4, p. 691-703, 2005.

GUYTON, J.R. Benefit versus risk in statin treatment. **Am J Cardiol**, v. 97, p. 95C-97C, 2006. (suppl)

HAASE, H.; OVERBECK, S.; RINK, L. Zinc supplementation for treatment or prevention of disease: current status and futures perspectives. **Exp Gerontol**, v. 43, n. 5, p. 394-408, 2008.

HAMBIDGE, M. Biomarkers of trace mineral intake status. **J Nutr**, v. 133p. 948S-955S, 2003. (suppl)

HANSSON, G.K.; ROBERTSON, A.K.L.; SÖDERBERG-NAUCLÉR, C. Inflammation and atherosclerosis. **Annu Rev Pathol Mech Dis**, v.1, p.297-329, 2006.

HARKEWICZ, R.; HARTVIGSEN, K.; ALMAZAN, F.; DENNIS, E.A.; WITZTUM, J.L.; MILLER, Y.I. Cholesteryl ester hydroperoxides are biologically active components of minimally oxidized low density lipoprotein. **J Biol Chem**, v. 283, n.16, p.10241-10251, 2008.

HENNING, B., MEERARANI, P.; RAMADASS, P.; TOBOREK, M.; MALECKI, A.; SLIM, R.; McCLAIN, C.J. Zinc nutrition and apoptosis of vascular endothelial cells: implications in atherosclerosis. **Nutrition**, v.15, p. 744-748, 1999<sup>a</sup>.

HENNING, B., MEERARANI, P.; RAMADASS, P.; TOBOREK, M.; MALECKI, A.; SLIM, R.; McCLAIN, C.J. Antioxidant-like properties of zinc in activated endothelial cells. **J Am Coll Nutr**, v.18, n.2 p. 152-158, 1999<sup>b</sup>.

HERCBERG, S.; GALAN, P.; PREZIOSI, P.; BERTRAI, S.; MENNEN, L.; MALVY, D.; ROUSSEL, A.M.; FAVIER, A.; BRIANÇON, S. The SU.VI.MAX.Study. A randomized, placebo-controlled trial of the health effects of antioxidants vitamins and minerals. **Arch Intern Med**, v. 164, p. 2335-2342, 2004.

HIGASHI, Y.; NOMA, K.; YOSHIZUMI, M.; KIHARA, Y. Endothelial functional and oxidative stress in cardiovascular diseases. **Circ J**, v.73, p.411-418, 2009.

HODKINSON, C.F.; KELLY, M.; ALEXANDER, H.D.; BRADBURY, I.; ROBSON, P.J.; BONHAM, M.P.; O'CONNOR, J.M.; COUDRAY, C.; STRAIN, J.J.; WALLACE, J.M.W. Effect of zinc supplementation in the immune status of healthy older individuals aged 55-70 years: The ZENITH Study. **J Gerontol A Biol Sci Med Sci**, v. 62A, n.6, p. 598-608, 2007.

HOJO, Y.; IKEDA, U.; KATSUKI, T.; MIZUNO, O.; FUKAZAWA, H.; KUROSAKI, K.; FUJIKAWA, H.; SHIMADA, K. Interleukin 6 expression in coronary circulation after coronary angioplasty as a risk factor restenosis. **Heart**, v. 84, p.83-87, 2000.

HOJO, Y.; IKEDA, U.; KATSUKI, T.; MIZUNO, O.; FUKAZAWA, H.; KUROSAKI, K.; FUJIKAWA, H.; SHIMADA, K. Chemokine expression in coronary circulation after coronary angioplasty as a prognostic factor for restenosis. **Atherosclerosis**, v. 156, p.165-170, 2001.

HOLBEN, D.H.; SMITH, A.M. The diverse role of selenium within selenoproteins: A review. **J Am Diet Assoc**, v. 99, n.7, p. 836-843, 1999.

HOLDGATE, G.A.; WARD, W.H.J; McTAGGART, F. Molecular mechanism for inhibition of 3-hydroxy-3-methylglutaryl CoA (HMG-CoA) reductase by rosuvastatin. **Biochem Soc Trans**, v. 33, n.3, p. 528-531, 2003.

HOLVOET, P.; PEREZ, G.; ZHAO, Z.; BROUWERS, E.; BERNAR, H.; COLLEN, D.; Malondialdehyde-modified low density lipoprotein in patients with atherosclerotic disease. **J Clin Invest**, v. 95, n. 6, p. 2611-2619, 1995.

HUGES, S.; SAMMAN, S. The effect of zinc supplementation in humans on plasma lipids, antioxidant status and thrombogenesis. **J Am Coll Nutr**, v. 25, n.4, p.285-291, 2006.

HUNNINGHAKE, D.B.; STEIN, E.A.; BAYS, H.E.; RADER, D.J.; CHITRA, R.R.; SIMONSON, S.G.; SCHNECK ,D.W. Rosuvastatin improves the atherogenic and atheroprotective lipid profiles in patients with hypertriglyceridemia. **Coron Artery Dis**, v.15, n. 2, p. 115-123, 2004.

IKEDA, U.; ITO, T.; SHIMADA, K. Interleucin-6 and acute coronary syndrome. **Clin Cardiol**, v. 24, p.701-704, 2001.

INSULL, W. The pathology of atherosclerosis: plaque development and plaque responses to medical treatment. **Am J Med**, v.122, p.3-14, 2009.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz**. 3.ed. São Paulo, 1985. v.1. 533p.

ISKRA, M.; MAJEWSKI, W. Cooper and zinc concentrations and the activities of ceruloplasmin and superoxide dismutase in atherosclerosis obliterans. **Biol Trace Elem Res**, v. 73, n.1, p. 55-65, 2000.

ISTVAN, E. Statin inhibition of HMG-CoA reductase: a 3-dimensional view. **Atheroscl Suppl**, v. 4, n. 1, p. 3-8, 2003.

ITABE, H.; MORI, M.; FUJIMOTO, Y.; HIGASHI, Y.; TAKANO, T. Minimally modified LDL is an oxidized LDL enriched with oxidized phosphatidylcholines. **J Biochem**, v. 134, p. 459-465, 2003.

ITABE, H.; TAKESHIMA, E.; IWASAKI, H.; KIMURA, J.; YOSHIDA, Y.; IMANAKA, T.; A monoclonal antibody against oxidized lipoprotein recognizes foam cells in atherosclerotic lesions. **J Biol Chem**, v. 269, n. 21, p. 15274-15279, 1994.

ITO, T.; IKEDA, U. Inflammatory cytokines and cardiovascular disease. **Curr Drug Targets Inflamm Allergy**, v.2, p.257-265, 2003.

JAWAD, E.; ARORA, R. Chronic stable angina pectoris. **Dis Mon**, v.54, n.9, p.671-689, 2008.

JENNER, A.; REN, M.; RAJENDRAN, R.; NING, P.; HUAT, B.T.K.; WATT, F.; HALLIWELL, B. Zinc supplementation inhibits lipid peroxidation and the development of atherosclerosis in rabbits fed a high cholesterol diet. **Free Rad Biol & Med**, v. 42, p. 559-566, 2007.

JOHNSON, F.; GIULIVI, C. Superoxide dismutases and their impact upon human health. **Mol Aspects Med**, v. 26, n. 4-5, p. 340-352, 2005.

KALIORA, A.C.; SCHMIDT, D.H. Dietary antioxidant in preventing atherogenesis. **Atherosclerosis**, v. 187, n.1, p.1-17, 2006.

KAMBE, T.; YAMAGUCHI-IWAI, Y.; SASAKI, R.; NAGAO, M. Overview of mammalian zinc transporters. **Cell. Mol. Life Sci.** v.61, n.1, p. 49–68, 2004.

KASHANI, A.; PHILLIPS, C.O.; FOODY, J.M.; WANG, Y.; MANGALMURTI, S.; KO, D.T.; KRUMHOLZ, H.M. Risks associated with statin therapy. **Circulation**, v. 114, p. 2788-2797, 2006.

KATCHER, H.I.; HILL, A.M.; LANDFORD, J.L.G.; YOO, J.S.; KRIS-ETHERNON, P.M. Lifestyle approaches and dietary strategies to lower LDL-cholesterol and triglycerides and raise HDL-cholesterol. **Endocrinol Metab Clin N Am**, v.38, p. 45–78, 2009.

KAZEMI-BAJESTANI, S.M.R.; GHAYOUR-MOBARHAN, M.; EBRAHIMI, M.; MOOHEBATI, M.; ESMAEILI, H.A.; PARIZADEH, M.R.; AGHACIZADEH, R.; FERNS, G.A.A. Serum copper and zinc concentrations are lower in Iranian patients with angiographically defined coronary artery disease than subjects with a normal angiogram. **J Trace Elem Med Biol**, v.21, n.1, p. 22-28, 2007.

KERKENI, M.; ADDED, F.; BEN FARHAT, M.; MILED, A.; TRIVIN, F.; MAAROUFI, K. Hyperhomocysteinaemia and parameters of antioxidative defence in Tunisian patients with coronary heart disease. **Ann Clin Biochem**, v. 45, n. 2, p. 193-198, 2008 .

KERNER, A.; GRUBERG, L.; GOLDBERG, A.; ROGUIN, A.; LAVIE, P.; LAVIE, L.; MARKIEWICZ, W.; BEYAR, R.; ARONSON, D. Relation of C-reactive protein to coronary



collaterals in patients with stable angina pectoris and coronary artery disease. **Am J Cardiol**, v.99, n.4, p. 509-512, 2007.

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

KING, J.C.; KEEN, C.L. Zinc. In: SHILS, M.E., OLSON, J.A., SHIKE, M.; ROSS, A.C. **Modern nutrition in health and disease**, 9.ed, Philadelphia : Lippincott Williams & Wilkins, 1999. cap. 11, p.223-239.

KINLAY, S. Potential vascular benefits of statins. **Am J Med**, v. 118, n.12A, p.625-675, 2005.

KNOPP, R.H. Drug therapy: drug treatment of lipid disorders. **New Engl J Med**, v. 341, n. 7, p. 498-511, 1999.

KOK, F.J.; HOFMAN, A.; WITTEMAN, J.C.; de BRUJN A.M.; KRUYSEN D.H.; de BRUIN M.; VALKENBURG, H.A. Decreased selenium levels in acute myocardial infarction. **JAMA**, v. 261, n. 8, p. 1161-1164, 1989.

KOSAR, F.; SAHIN, I.; TASKAPAN, C.; KÜÇÜKBAY, Z.; GÜLLÜ, H.; TASKAPAN, H.; ÇEHRELLI, S. Trace elements status (Se, Zn, Cu) in heart failure. **Andolu Kardiyol Derg**, v. 6, 216-220, 2006.

KOSAR, F.; TASKAPAN, C.; KÜÇÜKBAY, Z.; Serum levels of selenium, zinc and copper in patients with coronary artery ectasia. **Indian Heart J**, v. 59, n.1, p. 38-41, 2007.

KOSMALA, W.; DERZHKO, R.; PRZEWLOCKA-KOSMALA, M.; ORDA, A.; MAZUREK, W. Plasma levels of TNF- $\alpha$ , IL-6 and IL-10 and their relationship with ventricular diastolic function in patients with stable angina pectoris and preserved left ventricular systolic performance. **Coron Artery Dis**, v. 19, n. 6, p. 375-382, 2008.

KOTUR-STEVLJEVIC, J.; MEMON, L.; STEFANOVIC, A.; SPASIC, S.; SPASOJEVIC-KALIMANOVSKA, V.; BOGAVC-STANOJEVIC, N.; KALIMANOVSKA-OSTRIC, D.; JELIC-IVANOVIC, Z.; ZUNIC. Correlation of oxidative stress parameters and inflammatory markers in coronary artery disease patients. **Clin Biochem**, v.40, n. 3-4, p. 181-187, 2007.

KRAUSS, R. M.; BLANCHE, P. J.; RAWLINGS, R. S.; FERNSTROM, H. S.; WILLIAMS, P. T. Separate effects of reduced carbohydrate intake and weight loss on atherogenic dyslipidemia. **Am J Clin Nutr**, v. 83, p. 31-1025, 2006.

KREBS, N.F. Overview of zinc absorption and excretion in the human gastrointestinal tract. **J Nutr**, v. 130, p.1374S-1377S, 2000.

KRITHARIDES, L.; STOCKER, R. The use of antioxidant supplements in coronary heart disease. **Atherosclerosis**, v. 164, n.2, p. 211-219, 2002.

KULLER, L. H. Nutrition, Lipids, and Cardiovascular Disease. **Nut Rev**, v. 64, n. 2, p.15-26, 2006.

LAHERA, V.; GOICOECHEA, M.; VINUESA, S.G.; MIANA, M.; de las HERAS, N.; CACHOFEIRO, V.; LUÑO, J. Endothelial dysfunction, oxidative stress and inflammation in atherosclerosis: beneficial effects of statins. **Curr Med Chem**, v. 14, p.243-248, 2007.

LASSEGUE, B.; SORESCU, D.; SZOCS, K.; YIN, Q.; AKERS, M.; ZHANG, Y.; GRANT, S.L.; LAMBETH, J.D.; GRIENDLING, K.K. Novel gp91 (phox) homologues in vascular smooth muscle cells: nox 1 mediates angiotensin II-induced superoxide formation and redox-sensitive signaling pathways. **Cir Res**, v. 88, n.9, p. 888-894, 2001.

LASSEN, K.O.; HORDER, M. Selenium status and the effect of organic and inorganic selenium supplementation in a group of elderly people in Denmark. **Scand J Clin Lab Invest**, v. 54, p. 585-590, 1994.

LEVITAN, I.; VOLKOV, S.; SUBBAIAH, P.V. Oxidized LDL: diversity, patterns of recognition and pathophysiology. **Antioxid Redox Signal**, 2009. doi:10.1089/ars.2009.2733.

LEONHARDT, W.; KURKTSCHIEV, W.L.; MEISSNER, D.; LATTKE, P; ABLETSCHAUSER, C.; WEIDINGER, G.; JAROSS, W.; HANEFELD, M. Effects os fluvastatin therapy on lipids, antioxidants, oxidation of low density lipoproteins and trace metals. **Eur J Clin Pharmacol**, v. 53, p.65-69, 1997.

LIBBY, P. Inflammation in atherosclerosis. **Nature**, v.420, p.868-874, 2002.

LICHTEN, L.A.; COUSINS, R.J. Mammalian zinc transporters: nutritional and physiologic regulation. **Annu Rev Nutr**, v. 29, p.153-176,2009.

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

LOMBARDO, A.; BIASUCCI, L.M.; LANZA, G.A.; COLI, S.; SILVESTRI, P.; CIANFLONE, D.; LIUZZO, G.; BURZOTTA, F.; CREA, F.; MASERI, A. Inflammation as a possible link between coronary and carotid plaque instability. **Circulation**, v. 109, p.3158-3163, 2004.

LÖNNERDAL, B. Dietary factors influencing zinc absorption. **J. Nutr.**, v. 130, p. 1378S-1383S, 2000.

LOPES, A.C.S.; CAIAFFA, W. T.; SICHIERI, R.; MINGOTI, S.A.; COSTA, M.F. L. Consumo de nutrientes em adultos e idosos em estudo de base populacional: Projeto Bambuí. **Cad Saúde Pub**, v.21, n.4, p.1201-1209, 2005.

LOWE, N.M.; FEKETE, K.; DECSI, T. Methods of assessment of zinc status in humans: a systematic: Review. **Am J Clin Nutr**, v.89, p.1S-12S, 2009. (suppl)

LU, J.; HOLMGREN, A. Selenoproteins. **J Biol Chem**, v. 284, n.2, p. 723-727, 2009.

LUBOS, E.; SINNING, C.R.; SCHNABEL, R.B.; WILD, P.S.; ZELLER, T.; RUPPRECHT, H.J.; BICKEL, C.; LACKER, K.J.; PEETZ, D.; LOSCALZO, J.; MÜNDEL, T.; BLANKENBERG, S. Serum selenium and prognosis in cardiovascular disease: results from the AtheroGene study. **Atherosclerosis**, v.209, n.1, p. 271-277, 2010.

LUDMAN, A.; VENUGOPAL, V.; YELLON, D.M.; HAUSENLOY, D.J. Statins and cardioprotection – More than just lipid lowering. **Pharmacol Ther**, v. 122, n.1, p. 30-43, 2009.

LUSIS, A.J. Atherosclerosis. **Nature**, v. 407, p. 233-241, 2000.

LUZ, P.L.; CESERA, F.H; FAVARATO, D. CERQUEIRA, E.S. Comparation of serum lipids values in patients with coronary artery disease at <50, 50 to 59, 60 to 69, and >70 years of age. **Am J Cardiol**, v. 96, n.12, p. 1640-1643, 2005.

MAAT, M.P.M.; TRION, A. C-reactive protein as a risk factor versus risk marker. **Curr Opin Lipidol**, v. 15, n.6, p. 651-657, 2004.

McMURRAY, J.J.; KJEKSHUS, J.; GULLESTAD, L.; DUNSELMAN, P.; HJALMARSON, A.; WEDEL, H.; LINDBERG, M.; WAAGSTEIN, F.; GRANDE, P.; HRADEC, J.; KAMENSKY, G.; KOREWICKI, J.; KUUSI, T.; MACH, F.; RANJITH, N.; WIKSTRAND, J. CORONA Study Group. Effects of statin therapy according to plasma high-sensitivity C-reactive protein concentration in the Controlled Rosuvastatin Multinational Trial in Heart Failure (CORONA): a retrospective analysis. **Circulation**, v. 120, n.22, p. 2188-2196, 2009.

MAFRA, D.; COZZOLINO, S.M.F. Erythrocyte zinc and carbonic anhydrase levels in nondialyzed chronic kidney disease patients. **Clin Biochem**, v.37, p.67-71, 2004.

MARET, W.; SANDSTEAD, H.H. Zinc requirements and risks and benefits of zinc supplementation. **J Trace Elem Med Biol**, v. 20, p. 3-18, 2006.

MARIANI, E.; NERI, S.; CATTINI, L.; MOCCHEGIANI, E.; MALAVOLTA, M.; DEDOUSSIS, G.V.; KANONI, S.; RINK, L.; JAJTE, J.; FACCHINI, A. Effect of zinc supplementation on plasma IL-6 and MCP-1 production and NK cell function in healthy elderly: interactive influence of +647 MT1a and -174 IL-6 polymorphic alleles. **Exp Gerontol**, v. 43, n.5, p.462-471, 2008<sup>a</sup>.

MARIANI, E.; MANGIALASCHE, F.; FELIZIANI, F.T.; CECCHETTI, R.; MALAVOLTA, M.; BASTIANI, P.; BAGLIONI, M.; DEDOUSSIS, G.; FULOP, T.; HERBEIN, G.; JAJTE, J.; MONTI, D.; RINK, L.; MOCCHEGIANI, E.; MECOCCHI. Effects of zinc supplementation on antioxidant enzyme activities in healthy old subjects. **Exp Gerontol**, v. 43, n.5, p. 445-451, 2008<sup>b</sup>.

MARRET, W. The function of zinc metallothionein: a link between cellular zinc redox state. **J Nutr**, v. 133, n.5, suppl. 1, p. 1460S-1462S, 2003.

MARTIN, P.D; MITCHELL, P.D.; SCHNECK, D.W. Pharmacodynamic effects and pharmacokinetics of a new HMG-CoA reductase inhibitor, rosuvastatin, after morning or evening administration in healthy volunteers. **Science**, v. 54, n. 5, p. 472-477, 2002.

MATHIEU, P.; PIBAROT, P.; DESPRÉS, J. Metabolic syndrome: the danger signal in atherosclerosis. **Vasc Health and Risk Manag**, v. 2, n.3, p. 285-302, 2006.

MAYER, C.; GRUBER, H.J.; LANDL, E.M.; PAILER, S.; SCHARNAGL, H.; TRUSCHNIG-WILDERS, M.; MÄRZ, W. Rosuvastatin reduces interleukin-6-induced expression of C-reactive protein in human hepatocytes in a STAT3-and C/EBP-dependent fashion. **Int J Clin Pharmacol Ther**, v. 45, n.6, p. 319-327, 2007.

McCALL, K.A.; HUANG, C.C.; FIERKE, C.A. Function and mechanism of zinc metalloenzymes. **J Nutr**, v.130, p.1437S-1446S, 2000. (suppl)

McTAGGART, F. Comparative pharmacology of rosuvastatin. **Atheroscl Suppl**, v. 4, n.1, p. 9-14, 2003.

MOCCHIEGANI, E.; MUZZIOLI, M.; GIACCONI, R. Zinc and immunoresistance to infection in aging: new biological tools. **Trends Pharmacol Sci**, v.21, n.6, p. 205-208, 2000.

MOCCHIEGANI, E.; COSTARELLI, L.; GIACCONI, R.; CIPRIANO, C.; MUTI, E.; MALAVOLTA, M. Zinc-binding proteins (metallothionein and alpha-2 macroglobulin) and immunosenescence. **Exp Gerontol**, v. 41, n. 11, p. 1094-1107, 2006.

MOCCHIEGANI, E.; GIACCONI, R.; CIPRIANO, C.; MUZZIOLI, M.; GASPARINI, N.; MORESI, R.; STECCONI, R.; SUZUKI, H.; CAVALIERI, E.; MARIANI, E. MT mRNA gene expression via IL-6 and glucocorticoids, as potential genetic marker of immunosenescence: lessons from very old mice and humans. **Exp Gerontol**, v. 37, n. 2-3, p. 349-357, 2002.

MOCCHIEGANI, E.; MALAVOLTA, M.; MUTI, E.; COSTARELLI, L.; CIPRIANO, C.; PIACENZA, F.; TESEI, S.; GIACCONI, R.; LATTANZIO, F. Zinc, metallothioneins and longevity: interrelationships with niacin and selenium. **Curr Pharm Des**, v. 14, n. 26, p. 2719-2732, 2008<sup>a</sup>.

MOCCHIEGANI, E.; GIACCONI, R.; COSTARELLI, L.; MUTI, E.; CIPRIANO, C. TESEI, S.; PIERPAOLI, S.; GIULI, C.; PAPA, R.; MARCELLINI, F.; GASPARINI, N.; PIERANDREI, R.; PIACENZA, F.; MARIANI, E.; MONTI, D.; DEDOUSSIS, G.; KANONI, S.; HERBEIN, G.; FULOP, T.; RINK, L.; JAJTE, J.; MALAVOLTA, M. Zinc deficiency and IL-6 -174G/C polymorphism in old people from different European countries: effect of zinc supplementation. ZINCAGE study. **Exp Gerontol**, v. 43, n. 5, p. 433-444, 2008<sup>b</sup>.

MOGHADASZADEH, B.; BEGGS, A.H. Selenoproteins and their impact on human health through diverse physiological pathways. **Physiology**, v. 21, p. 307-315, 2006.

MOLAVI, B.; METHA, J.L. Oxidative stress in cardiovascular disease: molecular basis of its deleterious effects, its detection, and therapeutic considerations. **Curr opin Cardiol**, v.19, n. 5, p.488-493, 2004.

MONTEBUCCO, F.; MACH, F. New evidences for C-reactive protein (CRP) deposits in the arterial intima as a cardiovascular risk factor. **Clin Interv Aging**, v. 3, n.2, p.341-349, 2008.

MORA, S.; GLYNN, R.J.; HSIA, J.; MacFADYEN, J.G.; GENEST, J.; RIDKER, P.M. Statins for the primary prevention of cardiovascular events in women with elevated high-sensitivity c-reactive protein or dyslipidemia: results from the Justification for the Use of Statins in Prevention: An Intervention Trial Evaluating Rosuvastatin (JUPITER) and meta-analysis of women from primary prevention trials. **Circulation**, v. 121, n. 9, p. 1069-1077, 2010.

MOREIRA, M.A. **Medidas caseiras no preparo de alimentos**. 2.ed. AB: Goiânia, 2002. 130p.

MOOSMAN, B.; BEHL, C. selenoproteins, cholesterol-lowering drugs and the consequences. **Trends Cardiovascul Med**, v. 14, p.273-281, 2004<sup>a</sup>.

MOOSMAN, B.; BEHL, C. Selenoprotein synthesis and side-effects of statins. **Lancet**, v. 363, p.892-894, 2004<sup>b</sup>.

MOORE, J.A.; NOIVA, R.; WELLS, I.C. Selenium concentrations in plasma of patients with arteriographically defined coronary atherosclerosis. **Clin Chem**, v. 30, n.7, p.1171-1173, 1984.

MOZAFFARIAN, D.; WILSON, P.W.F.; KANNEL, W.B. Beyond established and novel risk factors – Lifestyle risk factors for cardiovascular disease. **Circulation**, v.117, p.3031-3038, 2008.

MURAKAMI, M.; HIRANO, T. Intracellular zinc homeostasis and zinc signaling. **Cancer Sci**, v. 99, p.1515-1522, 2008.

MURPHY, K.R.; MYORS, B. **Statistical Power Analysis: A Simple and General Model for Traditional and Modern Hypothesis Tests**. New York, Lawrence Erlbaum Assoc Inc, 2003.

NATELLA, F.; FIDALE, M.; TUBARO, F.; URSINI, F.; SCACCINI, C. Selenium supplementation prevents the increase in atherogenic electronegative LDL (LDL minus) in the post prandial phase. **Nutr Metab Cardiovasc**, v. 17, n. 9, p. 649-656, 2006.

NATIONAL CHOLESTEROL EDUCATION PROGRAM (NCEP) III. Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III). **National Institutes of Health Publication** n. 02-5215. Set, 2002.

NAVARRO-ALARCON, M.; CABRERA-VIQUE, C. Selenium in food and the human body: a review. **Sci Total Environ**, v. 400, n.1-3, p. 115-141, 2008.

NAVARRO-ALARCON, M.; LOPÉZ-MARTÍNEZ, M.C. Essentiality of selenium in the human body: relationship with different diseases. **Sci Total Environ**, v. 249, n.1-3, p. 347-371, 2000.

NEGGERS, Y.H.; GOLDENBERG, R.L.; TAMURA, T.; JOHNSON, K.E.; COPPER, R.L.; DUBARD, M. Plasma and erythrocyte zinc concentrations and their relations to dietary zinc intake and zinc supplementation during pregnancy in low-income African-American women. **J Am Diet Assoc**, v. 97, n.11, p.1269-1274, 1997.

NÈVE, J.; HANOCQ, M.; PERETZ, A.; ABI KHALIL, F.; PELEN, F. Some factors influencing the bioavailability of zinc in oral pharmaceutical dosage forms. **J Pharm Belg**, v. 48, p. 1, p. 5-11, 1993.

NORATA, G.D; PIRILLO, A.; CATAPANO, A.L. Statins and oxidative stress during atherosclerosis. **J Cardiovasc Risk**, v. 10, p. 181-189, 2003.

OBEID, O.; ELFAKHANI, M.; HLAIS, S.; ISKANDAR, M.; BATAL, M.; MOUNEIMNE, Y.; ADRA, N.; HWALLA, N. Plasma copper, zinc, and selenium levels and correlates with metabolic syndrome components of lebanese adults. **Biol Trace Elem Res**, v. 123, n. 1-3, p. 58-65, 2008.

OLIVEIRA, J.A.; SEVANIAN, A.; RODRIGUES, R.J.; APOLINÁRIO, E.; ABDALLA, D.S.P. Minimally modified electronegative LDL and its autoantibodies in acute and chronic coronary syndromes. **Clin Biochem**, v. 39, p. 708-714, 2006.

ORDOVAS, J.M.; KAPUT, J.; CORELLA, D. Nutrition in the genomics era: Cardiovascular disease risk and the Mediterranean diet. **Mol Nutr Food Res**, v.51, n.10, p. 1293-1299, 2007.

ORTUÑO, J. Importancia nutricional del selênio. **Arch Latinoam Nutr**, v.47, n. 1, p. 6-13, 1997.

OSGANIAN, S.K.; STAMPFER, M.J.; RIMM, E.; SPIEGELMAN, D.; HU, F.B.; MANSON, J.A.E.; WILLETT, W. C. Vitamin C and Risk of Coronary Heart Disease in Women. **J Am Coll Cardiol**, v. 42, n. 2, p. 246-252, 2003.

OSTER, O.; DAHM, M.; OELERT, H.; PRELLWITZ, W. Concentrations of some trace elements (Se, Zn, Cu, Fe, Mg, K) in blood and heart tissue of patients with coronary heart disease. **Clin Chem**, v. 35, n. 5, p. 851-856, 1989.

PAGLIA, D.E.; VALENTINE, W.N. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. **J Lab Clin Med**, v. 70, n. 1, p. 158-169, 1967.

PALINSKI, W.; TSIMIKAS, S. Immunomodulatory effects of statins: mechanisms and potential impact on arteriosclerosis. **J Am Soc Nephrol**, v. 13, n.2, p. 1673-1681, 2002.

PAPP, L.V.; LU, J.; HOLMGREN, A.; KHANNA, K.K. From selenium to selenoproteins: synthesis, identity, and their role in human health. **Antioxid Redox Signal**, v. 9, n. 7, p. 775-806, 2007.

PAPP, L.V.; LU, J.; HOLMGREN, A.; KHANNA, K.K. Selenium and selenoproteins in health and disease. **Antioxid Redox Signal**, v.12, n.7, p. 793-795, 2010.

PARIZADEH, S.M.; MOOHEBATI, M.; GHAYOUR-MOBARHAN, M.; KAZEMI-BAJESTANI, S.M.; TAVALLAINE, S.; AZIMI-NEZHAD, M.; FERNS, G.A. **Angiology**, v. 60, n.2, p.186-191, 2009.

PARMAR, KM.; NAMBU DIRI, V.; DAI, G.; BENJAMIN LARMAN, H.; GIMBRONE, MA; GARCIA-CARDEN, G. Statins Exert Endothelial Atheroprotective Effects via the KLF2 Transcription Factor. **J Biol Chem**, v. 280, n.29, p. 26714-26719, 2005.

PARTHASARATHY, S.; KHAN-MERCHANT, N.; PENUMETCHA, M.; SANTANAM, N. Oxidative stress in cardiovascular disease. **J Nucl Cardiol**, v.8, p.379-389, 2001.

PASCERI, V.; CHANG, J.; WILLERSON, J.T.; YEH, E.T.H. Modulation of C-reactive protein-mediated monocyte chemoattractant protein-1 induction in human endothelial cells by anti-atherosclerosis drugs. **Circulation**, v.103, 2531-2534, 2001.

PEREIRA, E.C.; BERTOLAMI, M.C.; FALUDI, A.A.; SEVANI, A.; ABDALLA, D.S.P. Antioxidant effect of simvastatin is not enhanced by its association with  $\alpha$ -tocopherol in hypercholesterolemic patients. **Free Rad Biol & Med**, v. 37, n.9, p. 1440-1448, 2004.

PEREIRA, J.C.; BARRETO, S.M.; PASSOS, V.M. A. O perfil de saúde cardiovascular dos idosos brasileiros precisa melhorar: estudo de base populacional. **Arq Bras Cardiol**, v.91, n.1, p. 1-10, 2008.

PERK, J. Risk factor management: a practice guide. **Eur J Cardiovasc Prev Rehabil**, v. 16 (suppl 2), p. 24-28, 2009.suppl

PETERS, S.A.; PALMER, M.K.; GROBBEE, D.E.; CROUSE, J.R.; O'LEARY, D.H.; RAICHLIN, J.S.; BOTS, M.L. C-reactive protein lowering with rosuvastatin in the METEOR study. **J Intern Med**, (2010). *In press*



PILZ, S.; DOBNIG, H.; WINKLHOFER-ROOB, B.M.; RENNER, W.; SEELHORST, U.; WELLNITZ, B.; BOEHM, B.O.; MÄRZ, W. Low serum zinc concentrations predict mortality in patients referred to coronary angiography. **Br J Nutr**, v. 101, n.10, p. 1534-1540, 2009.

PINHEIRO, A.B.V; LACERDA, E.M.A.; BENZECRY, E.H.; GOMES, M.C.S.; COSTA, V.M. **Tabela para avaliação de consumo alimentar em Medidas Caseiras**. 5ª Ed. São Paulo: Editora Atheneu, 2008, 131p.

PISCHON, T.; HANKINSON, S.E.; HOTAMISLIGIL, G.S.; RIFAI, N.; WILLETT, W.C.; RIMM, E.B. Habitual dietary intake of n-3 and n-6 fatty acids in relation to inflammatory markers among US men and women. **Circulation**, v.108, n.2, p. 155-160, 2003.

PORKKALA-SARATAHO, E. K.; KRISTIINA NYSSÖNEN, M.; KAIKKONEN, J.E.; POULSEN, H.E.; HAYN, E. M.; SALONEN, R.M.; SALONEN, J.T . A randomized, single-blind, placebo-controlled trial of the effects of 200 mg a-tocopherol on the oxidation resistance of atherogenic Lipoproteins. **Am J Clin Nutr**, v.68, n.5, p.1034–1041, 1998.

PRASAD, A.S. Clinical, immunological, anti-inflammatory and antioxidant roles of zinc. **Exp Gerontol**, v. 43, n. 5, p. 370-377, 2008.

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

PRASAD. A.S.; BAO, B; BECK, F. W.J.; KUCUK, O.SARKARZ, F H. Antioxidant effect of zinc in humans. **Free Rad Biol Med**, v. 37, n.8, p. 1182–1190, 2004.

QUEHENBERGER, O. Molecular mechanisms regulating monocyte recruitment in atherosclerosis. **J Lipid Res**, v.46, p.1582-1590, 2005.

RADER, D.J.; DAUGHERTY, A. Translating molecular discoveries into new therapies for atherosclerosis. **Nature**, v.451, p.904-913, 2008.

RAO, R.M.; YANG, L.; GARCIA-CARDENA, G.; LUSCINSKAS, F.W. Endothelial-dependent mechanisms of leukocyte recruitment to the vascular wall. **Circ Res**, v.101, p.234-247, 2007.

RAYMAN, M.P. Selenoproteins and human health: insights from epidemiological data. **Biochim Biophys Acta**, v.1792, n.11, p. 1533-1540, 2009.

RAYMAN, M.P.; INFANTE, H.G.; SARGENT, M. Food-chain selenium and human health: spotlight and speciation. **Br J Nutr**, v. 100, p.238-253, 2008.

REAL, J.T.; MARTÍNEZ-HERVÁS, S.; TORMOS, M.C.; DOMENECH, E.; PALLARDÓ, F.V.; SÁEZ-TORMO, G.; REDON, J.; CARMENA, R.; CHAVES, F.J.; ASCASO, J.F.; GARCÍA-GARCÍA, A.B. Increased oxidative stress levels and normal antioxidant enzyme activity in circulating mononuclear cells from patients of familial hypercholesterolemia. **Metabolism**, v. 59, n.2, p. 293-298, 2010.

REITERER, G.; MacDONALD, R.; BROWNING, J.D.; MORROW, J.; MATVEEV, S.V.; DAUGHERTY, A.; SMART, E.; TOBOREK, M. HENNIG, B. Zinc deficiency increases plasma lipids and atherosclerotic markers in LDL-receptor-deficient mice. **J Nutr**, v.135, p. 2114-2118, 2005.

REN, M.; RAJENDRAN, R.; NING, P.; HUAT, B.T.K.; NAM, O.C.; WATT, F.; JENNER, A.; HALLIWELL. Zinc supplementation decreases the development of atherosclerosis in rabbits. **Free Rad Biol & Med**, v. 41, p. 222-225, 2006.

RESCH, U.; TATZBER, F.; BUDINSKY, A.; SINZINGER, H. Reduction of oxidative stress and modulation of autoantibodies against modified low-density lipoprotein after rosuvastatin therapy. **Br J Clin Pharmacol**, v. 61, n. 3, p. 262-274, 2006.

REZENDE, F.A.C; ROSADO, L.E.F.P.L.; RIBEIRO, R.C.L.; VIDIGAL, F.C.; VASQUES, A.C.J.; BONARD, I.S.; CARVALHO, C.R. Índice de Massa Corporal e Circunferência Abdominal: Associação com Fatores de Risco Cardiovascular. **Arq Bras Cardiol**, v.87, n.6, p. 728-734, 2006.

RIDKER, P.M.; DANIELSON, E.; FONSECA, F.A.; GENEST, J.; JR GOTTO, A.M.; KASTELEIN, J.J.; KOENIG, W.; LIBBY, P.; LORENZATTI, A.J.; MACFADYEN J.G.; NORDESTGAARD, B.G.; SHEPHERD, J.; WILLERSON J.T.; GLYNN, R.J.; JUPITER Study Group. Reduction in C-reactive protein and LDL cholesterol and cardiovascular event rates after initiation of rosuvastatin: a prospective study of the JUPITER trial. **Lancet**, v. 373, n. 9670, p.1175-1182, 2009.

RIDKER, P.M.; RIFAI, N.; STAMPFER, M.J.; HENNEKENS, C.H. Plasma concentration of interleukin-6 and the risk of future myocardial infarction among apparently healthy men. **Circulation**, v. 101, p.1767-1772, 2000.

RIPA, S.; RIPA, R. Zinc and atherosclerosis. **Minerva Med**, v. 85, p. 647-654, 1994.

RODRIGUES, M.P.; NARIZANO, A.; DEMEZLO, V.; CID, A.A. A simple method for a determination of zinc human plasma levels by flame atomic absorption spectrophotometry. **At Spectros**, v.10, n.2, p.68-70, 1989.

ROSENSON, R.S. Statins in atherosclerosis: lipid-lowering agents with antioxidants capabilities. **Atherosclerosis**, v. 173, p. 1-12, 2004.

ROUSSEL, A.M.; KERKENI, A.; ZOUARI, N.; MAHJOUR, S.; MATHEAU, J.M.; ANDERSON, R.A. Antioxidant effects of zinc supplementation in Tunisians with type 2 diabetes mellitus. **J Am Coll Nutr**, v. 22, n.4, p. 316-321, 2003.

RUBBA, P.; MAROTTA, G.; GENTILE, M. Efficacy and safety of rosuvastatin in the management of dyslipidemia. **Vasc Health Risk Manag**, v. 5, n.1, p. 343-352, 2009.

SALGUEIRO, M.J.; ZUBILLAGA, M.; LYSIONEK, A.; CREMASCHI, G.; GOLDMAN, C.G.; CARO, R.; DE PAOLI, T.; HAGER, A.; WEILL, R.; BOCCIO, J. Zinc status and immune system relationship. **Biol Trace Elem Res**, v.76, n.3, p. 193-205, 2000.

SÁNCHEZ-QUESADA, J.L.; CAMACHO, M.; ANTÓN, R.; BENÍTEZ, S.; VILA, L.; ORDÓÑEZ-LLANOS, J. Electronegative LDL of FH subjects: chemical characterization and induction of chemokine release from human endothelial cells. **Atherosclerosis**, v. 166, p. 261-270, 2003.

SÁNCHEZ-QUESADA, J.L.; BENÍTEZ, S.; ORDÓÑEZ-LLANOS, J. Electronegative low-density lipoprotein. **Curr Opin Lipidol**, v. 15, p.329-335, 2004.

SANTOS, H.G.; SARDINHA, F.A.A.; COLLI, C. Zinco eritrocitário (validação de um método de análise) e Zinco dietético na avaliação do estado nutricional de mulheres adultas. **Rev Bras Cienc Farm**, v. 41, n. 2, p. 205-213, 2005<sup>a</sup>.

SANTOS, C.A.; BOULLATA, J.I. An approach to evaluating drug-nutrient interactions. **Pharmacotherapy**, v.25, n.12, p.1789-1800, 2005<sup>b</sup>.

SCHNABEL, R.; LUBOS, E.; MESSOW, C.M.; SINNING, C.R.; ZELLER, T.; WILD, P.S.; PEETZ, D.; HANDY, D.E.; MUNZEL, T.; LOSCALZO, J.; LACKNER, K.J.; BLANKENBERG, S. Selenium supplementation improves antioxidant capacity in vitro e in vivo in patients with coronary artery disease: The SElenium Therapy in Coronary Artery disease Patients (SETCAP) Study. **Am Heart J**, v. 156, p.1201.e1-1211.e11, 2008.

SCHUETT, H.; LUCHTEFELD, M.; GROTHUSEN, C.; GROTE, K.; SCHIEFFER, B. How much is too much? Interleukin-6 and its signalling in atherosclerosis. **Thromb Haemost**, v. 102, p.215-222, 2009.

SCHOEN, J. F.. Vasos Sanguíneos. In: COTRAN, R. S; KUMAR, V; ROBBIN,SL. **Patologia estrutural e funcional**. 7ª ed, Guanabara Koogan: Rio de Janeiro, 2005. Cap 12, p.537-582.

SCHUSTER, H. Rosuvastatin- a highly effective new 3-hydroxy-e-methylglutaryl coenzyme A reductase inhibitor: review of clinical Trial data at 10-40mg doses in dyslipidemis patients. **Cardiology**, v. 99, n. 3, p. 126-139, 2003.

SCHWENKE, D.C.; RUDEL, L.L.; SORCI-THOMAS, M.G; THOMAS, M. J.  $\alpha$ -Tocopherol protects against diet induced atherosclerosis in New Zealand white rabbits. **J Lipid Res**, v. 43, n.11, p. 1927–1938, 2002.

SEKLER, I.; SENSI, S.L.; HERSHFINKEL, M.; SILVERMAN, W.F. Mechanism and regulation of cellular zinc transport. **Mol. Med**, v. 13, n. 7-8, p. 337-343, 2007.

SENA, K.C.M; ARRAIS, R.F.; ALMEIDA, M.G.; ARAÚJO, D.M; SANTOS, M.M.; LIMA, V.T.; PEDROSA, L.F.C. Effects of zinc supplementation in patients with type 1 Diabetes. **Biol Trace Elem**, v.105, n.1-9, 2005.

SEN-BANERJEE, S.; MIR, S.; LIN, Z.; HAMIK, A.; ATKINS, GB; DAS, H.; BANERJEE, P.; KUMAR, A.; JAIN, MK. Kruppel-Like Factor 2 as a Novel Mediator of Statin Effects in Endothelial Cells. **Circulation**, v.112, p. 720-726, 2005.

SEVANIAN, A.; BITTOLO-BON, G.; CAZZOLATO, G.; HODIS, H.; HWANG, J.;ZAMBURLINI, A.; MAIORINO, M.; URSINI, F. LDL<sup>-</sup> is a lipid hydroperoxide-enriched circulating lipoprotein. **J Lipid Res**, v. 38, p.419-428, 1997.

SHEN, H.; OESTERLING, E.; STROMBERG, A.; TOBOREK, M.; MacDONALD, R.; HENNIG, B. Zinc deficiency induces vascular pro-inflammatory parameters associated with NF- $\kappa$ B and PPAR signaling. **J Am Coll Nutr**, v. 27, n. 5, p. 577-587, 2008.

SHOKRZADEH, M.; GHAEMIAN, A.; SALEHIFAR, E.; ALIAKBARI, S.; SAEEDI, S.S.S.; EBRAHIMI, P. Serum zinc and cooper levels in ischemic cardiomyopathy. **Biol Trace Elem Res**, v. 127, n. 2, p.116-123, 2009.

SIGNORI, I. U.; PLENTZ, R. D. M.; IRIGOYEN, M. C.; SCHAAN, B. D. O Papel da Lipemia Pós-Prandial na Gênese da Aterosclerose: Particularidades do Diabetes Mellitus. **Arq Bras Endocrinol Metab**, v. 51, n. 2, p. 222-231, 2007.

SILVA, M.A.; SWANSON, A.C.; GANDHI, P.J.; TATARONIS, G.R. Statin-related adverse events: a meta-analysis. **Clin Ther**, v. 28, n. 1, p. 26-35, 2006.

SINGH, U. JIALAL, I. Oxidative stress and atherosclerosis. **Pathophysiology**, v. 13, n.3, p. 129-142, 2006.

SLATER, B.; MARCHIONI, D.L.; FISBERG, R.M. Estimando a prevalência de ingestão inadequada de nutrientes. **Rev Saúde Pública**, v.38, n.4, p. 599-605, 2004.

SOARES, F.M.; NOGUEIRA, N.N.; MARREIRO, D.N.; CARVALHO, C.M.R.G.; MONTE, S.J.H.; NETO, J.M.M.; ROCHA, V.S.; CARDOSO, B.V.S. Concentrações plasmáticas e eritrocitárias de zinco em idosos portadores e não portadores de catarata senil em um serviço oftalmológico especializado de Teresina-Piauí. **Arq Bras Oftalmol**, v. 71, n.5, p. 674-678, 2008.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA. III Diretrizes Brasileiras Sobre Dislipidemias e Diretriz de Prevenção da Aterosclerose do Departamento de Aterosclerose da Sociedade Brasileira de Cardiologia. **Arq. Bras. de Cardiol**, v.77, Suplemento III, p.1-48, 2001.

\_\_\_\_\_. IV Diretriz Brasileira sobre Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose. Departamento de Aterosclerose da Sociedade Brasileira de Cardiologia. **Arq Bras Cardiol**, v.88, Suplemento I, p. 1-19, 2007.

\_\_\_\_\_. Diretrizes de Doença Coronariana Crônica. Angina Estável. **Arq Bras Cardiol**, v.83. Suplemento II, p. 1-43, 2004.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES. **Tratamento e acompanhamento do diabetes mellitus. Diretrizes da Sociedade Brasileira de Diabetes**. Rio de Janeiro: Ed . Diagraphic, 2007. 168p.

SORDILLO, L.M.; STREICHER, K.L.; MULLARKY, I.K.; GANDY, J.C.; TRIGONA, W.; CORL, C.M. Selenium inhibits 15-hydroperoxyoctadecadienoic acid-induced intracellular adhesion molecule expression in aortic endothelial cells. **Free Radic Biol & Med**, v. 44, n. 1, p. 34-43, 2008.

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

STOCKER, R., KEANEY, J.F. Role of oxidative modifications in atherosclerosis. **Physiol Rev**, v. 84, p.1381-1478, 2004.

STOCKLER, M.B.; MAFRA, D.; FARAGE, N.E.; BOAVENTURA, G.T.; COZZOLINO, S.M.F. Effect of Brazil nut supplementation on the blood levels of selenium and glutathione peroxidase in hemodialysis patients. **Nutrition** (2009), doi: 10.1016/j.nut.2009.08.006.

SULLIVAN, V.K.; BURNETT, F.R. ; COUSINS, R. J. Metallothionein Expression Is Increased in Monocytes and Erythrocytes of Young Men during Zinc Supplementation. **J Nutr**, v. 128, n.4, p. 707-713, 1998.

SUZUKI, K.T. Metabolomics of selenium: Se metabolites based on speciation studies. **J Health Sci**, v.51, n.2, p. 107-114, 2005.

SUZUMURA, K.; ODAWARA, A.; YASUHARA, M.; TANAKA, K.; NARITA, H.; SUZUKI, T. In vitro inhibitory effects of the optical isomers and metabolites of fluvastatin on copper ion-induced LDL oxidation. **Biolog Pharmaceut Bull**, v. 22, n.9, p. 971-974, 1999.

**TACO. Tabela Brasileira de Composição de Alimentos**, NEPA-UNICAMP – Versão II. Campinas:NEPA-UNICAMP 2006. Disponível em: <[www.unicamp.br/nepa/taco](http://www.unicamp.br/nepa/taco)>

TACCONE-GALLUCI, M.; NOCE, A.; BERTUCCIN, P.; FABBRIC, C.; MANCA-DI-VILLAHERMOSA, S.; DELLA-ROVERE, F.R.; De FRANCESCO, M.; LONZI, M.; FEDERICI, G.; SCACCIA, F.; DESSI, M. Chronic treatment with statins increases the availability of selenium in the antioxidant defence systems of hemodialysis patients. **J Trace Elem Med Biol**, v.24, n.1, p. 37-30, 2010.

TARASTCHUK, J.C.E.; GUÉRIOS, Ê.E.; BUENO, R.R.L.; ANDRADE, P.M.P.; NERCOLINI, D.C.; FERRAZ, J.G.G.; DOUBRAWA, E. Obesidade e Intervenção Coronariana: Devemos Continuar Valorizando o Índice de Massa Corpórea?. **Arq Bras Cardiol**, v.90, n.5, p. 311-316, 2008.

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

THOMSON, C.D. Assessment of requirements for selenium and adequacy of selenium status: a review. **Eur J Clin Nutr**, v. 58, p. 391-402, 2004.

THOMSON, C.D.; CHISHOLM, A.; MCLACHLAN, S.K.; CAMPBELL, J.M. Brazil nuts: an effective way to improve selenium status. **Am J Clin Nutr**, v.87, n.2, p. 379-84, 2008.

TINGGI, U. Selenium: its role as antioxidant in human health. **Environ Health Prev Med**, v. 13, n.2, p. 102-108, 2008.

TIWARI, A. An overview of statin-associated proteinuria. **Drug Discov Today**, v. 11, n. 9-10, p. 458-464, 2006.

TOMITA, L.Y.; CARDOSO, M.A. **Relação de medidas caseiras, composição química e receitas de alimentos nipo-brasileiros**. 2ª Ed. São Paulo: Editora Metha, 2002, 85p.

TORNVALL, P.; WEAG, G.; NILSSON, J.; HAMSTEN, A.; REGNSTRÖM, J. Autoantibodies against modified low-density lipoproteins in coronary artery disease. **Atherosclerosis**, v. 167, n.2, p. 347-353, 2003.

TOSUKHOWONG, P.; SANGWATANAROJ, S.; JATUPORN, S.; PRAPUNWATTANA, P.; SAENGSI, A.; RATTANAPRUKS, S.; SRIMAHACHOTA, S.; UDAYACHALERM, W.; TANGKIJVANICH, P. The correlation between markers of oxidative stress and risk factors of coronary artery disease in Thai patients. **Clin Hemorheol Microcirc**, v. 29, n. 3-4, p. 321-329, 2003.

TRAULSEN, H.; STEINBRENNER, H.; BUCHCZYK, D.P.; KLOTZ, L.O.; SIES, H. Selenoprotein P protects low-density lipoprotein against oxidation. **Free Rad Res**, v. 38, n.2, p.123-128, 2004.

TRAN, C.D.; MILLER, L.V.; KREBS, N.F.; LEI, S.; HAMBIDGE, K.M. Zinc absorption as a function of the dose of zinc sulfate in aqueous solution. **Am J Clin Nutr**, v. 80, n.6, p. 1570-1573, 2004.

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

UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE (USDA) U.S. Department of Agriculture, Agricultural Research Service. 2008. **National Nutrient Database for Standard Reference**, Release 21. Nutrient Data Laboratory Home Page, 2008 [acesso em: 11 nov 2008]. Disponível em: <http://www.ars.usda.gov/ba/bhnrc/ndl>.

VASTO, S.; MOCCHIGIANI, E.; CANDORE, G.; LISTÌ, F.; COLONNA-ROMANO, G.; LIO, D.; MALAVOLTA, M.; GIACCONI, R.; CIPRIANO, C.; CARUSO. Inflammation, genes and zinc in ageing and age-related diseases. **Biogerontology**, v. 7, n.5-6, p. 315-327, 2006.

VENARDOS, K.M.; KAYE, D.M. Myocardial ischemia-reperfusion injury, antioxidant enzyme systems, and selenium: a review. **Curr Med Chem**, v.14, n.14, p. 1539-1549, 2007.

VENUGOPAL, S.E.; DEVARAJ, S.; YUHANNA, I.; SHAUL, P.; JIALAL, I. Demonstration that C-reactive protein decreases eNOS expression and bioactivity in human aortic endothelial cells. **Circulation**, v.106, p.1439-1441, 2002.

VERHOYE E.; LANGLOIS M.R.; ASKLEPIOS INVESTIGATORS. Circulating oxidized low-density lipoprotein: a biomarker of atherosclerosis and cardiovascular risk? **Clin Chem Lab Med**, v.47, n.2, p. 128-137, 2009.

VITOUX, D; ARNAUD, J.; CHAPPUIS, P. Are cooper, zinc, selenium in erithrocytes valuable biological indexes of nutrition and pathology? **J. Trace Elements Med. Biol.**, v. 13, p. 113-128, 1999.

VOGIATZI, G.; TOUSOULIS, D.; STEFANADIS, C. The role of oxidative stress in atherosclerosis. **Hellenic J Cardiol**, v.50, p.402-409, 2009.

VOLANAKIS, J.E. Human C-reactive protein: expression, structure, and function. **Mol Immunol**, v. 38, n(2-3), p. 189-197, 2001.

WASSMANN, S.; LAUFS, U.; BÄUMER, A.T.; MÜLLER, K.; KONKOL, C.; SAUER, H.; BÖHN, M.; NICKENIG, G. Inhibition of geranylgeranylation reduces angiotensin II-medited free radical production in vascular smooth muscle cells: involvement if angiotensin AT1 receptor expression and Rac1 GTPase. **Mol Pharmacol**, v. 59, n.3, p. 646-654, 2001.

WEINBRENNER, T; CLADELLAS, M.; ISABEL COVAS, M.; FITÓ, M.; TOMÁS, M.; SENTÍ, M.; BRUGUERA, J.; MARRUGAT, J. High oxidative stress in patients with stable coronary heart disease. **Atherosclerosis**, v. 168, n. 1, p. 99-106, 2003.

WHITE, M.C. A review of the pharmacologic and pharmacokinetic aspects of rosuvastatin. **J Clin Pharmacol**, v. 42, n. 9, p.963-970, 2002.

WHITEHOUSE, R.C.; PRASAD, A.S.; RABBANI, P.I.; COSSACK, Z.T. Zinc in plasma, neutrophils, lymphocytes, and erythrocytes as determined by flameless atomic absorption spectrophotometry. **Clin Chem**, v. 28, n. 3, p. 475-80, 1982.

WIDLANSKY, M.E.; GOKCE, N.; KEANEY, J.F.; VITA, A.J. The clinical implications of endothelial dysfunction. **J Am Coll Cardiol**, v.42, n.7, 2003.



WILLCOX, B.J.; CURB, J.D.; RODRIGUEZ, B.L. Antioxidants in cardiovascular health and disease: key lessons from epidemiologic studies. **Am J Cardiol**, v. 101, n.10 (suppl 1), S75-S86, 2008.

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

WILSON, A.M.; RYAN, M.C.; BOYLE, A.J. The novel role of C-reactive protein in cardiovascular disease: risk marker or pathogen. **Int J Cardiol**, v. 106, p.291-297, 2006.

WINTHER, M.P.; KANTERS, E.; KRAAL, G.; HOFKER, M.H. Nuclear factor kappaB signaling in atherosclerosis. **Arterioscler Thromb Vasc Biol**, v. 25, n.5, p.904-914, 2005.

WITTE, K.K.; CLARK, A.L. Micronutrients and their supplementation in chronic cardiac failure. An update beyond theoretical perspectives. **Heart Fail Rev**, v. 11, p. 65-74, 2006.

WOOD, R.J. Assessment of marginal zinc status in humans. **J Nutr**, v.130, p. 1350S-1354S, 2000. (suppl)

WOOD, R. J.; VOLEK, J. S.; DAVIS, S. R.; DELL'OVA, C.; FERNANDEZ M. L. Effects of a carbohydrate-restricted diet on emerging plasma markers for cardiovascular disease. **Nutr Metab**, v. 3, n. 19, p. 1-12, 2006.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. World Health Statistics 2009. Itália, 2009. Disponível em [http://whqlibdoc.who.int/publications/2009/9789241563819\\_eng.pdf](http://whqlibdoc.who.int/publications/2009/9789241563819_eng.pdf)

\_\_\_\_\_. **Obesity: Preventing and managing the global epidemic**. Report of a WHO consultation. WHO Technical Report Series 894. cap. 2, p.6-15, Geneva, 2004.

YILMAZ, M.I.; BAYKAL, Y.; SONMEZ, A.; BULUCU, F.; AYDIN, A.; SAYAL, A.; KOCAR, I.H. Effects of statins on oxidative stress. **Biol Trace Elem Res**, v. 98, p. 119-127, 2004.

YAN, Z.Q.; HANSSON, G.K. Innate immunity, macrophage activation, and atherosclerosis. **Immunol Rev**, v. 219, p.187-203, 2007.

YOUNG, I.S.; WOODSIDE, J.V. Antioxidants in health and disease. **J Clin Pathol**, v. 54,n.3, p. 176-186, 2001.

YU, H.; RIFAI, N. High-sensitivity C-reactive protein and atherosclerosis: from theory to therapy. **Clin Biochem**, v. 33, n.8, p. 601-610, 2000.

YU, K.H.; OH, S.K.; RHEE, S.J.; YOO, N.J.; KIM, N.H.; JEONG, J.W. 12-month follow-up results of high dose rosuvastatin loading before percutaneous coronary intervention in patients with acute coronary syndrome. *Int J Cardiol*, 2010. *In Press*.

ZABOTTO, C. B.; VIANA, R. P.; GIL, M. F. **Registro fotográfico para inquéritos dietéticos: utensílios e porções**. Campinas, SP: UNICMP - FCG, 1996, 74 p.

ZHANG F, YU W, HARGROVE JL, GREENSPAN P, DEAN RG, TAYLOR EW, HARTLE DK. Inhibition of TNF-alpha induced ICAM-1, VCAM-1 and E-selectin expression by selenium. **Atherosclerosis**, v.161, n.2, p. 381-386, 2002.

ZHANG, H.; LUO, Y.; ZHANG, W.; HE, Y.; DAI, S.; ZHANG, R. HUANG, Y.; BERNATCHEZ, P.; GIORDANO, F.J.; SHADEL, G.; SESSA, W.C.; MIN, W. Endothelial-specific expression of mitochondrial thioredoxin improves endothelial cell function and reduces atherosclerotic lesions. **Am J Pathol**, v. 170, p. 1108-1120, 2007.

ZHANG, Z.J.; MARROQUIN, O.C.; WEISSFELD, J.L.; STONE, R.A.; MULUKUTLA, S.R.; WILLIAMS, D.O.; SELZER, F.; KIP, K.E. Beneficial effects of statins after percutaneous coronary intervention. **Eur J Cardiovasc Prev Rehabil**, v. 16, p. 445-450, 2009.

ZAWADZKA-BARTCZAK ,E. Activities of red blood cell anti-oxidative enzymes (SOD, GPx) and total anti-oxidative capacity of serum (TAS) in men with coronary atherosclerosis and in healthy pilots. **Med Sci Monit**, v.11, n. 9, p.440-444, 2005.

ZUREIK, M.; GALAN, P.; BERTRAIS, S.; MENNEN, L.; CZERNICHOW, S.; BLACHER, J.; DUCIMETIÈRE, P.; HERCBERG, S. Effects of long-term daily low-dose supplementation with antioxidant vitamins and minerals on structure and function of large arteries. **Arterioscler Thromb Vasc Biol**, v. 24, p.1485-1491, 2004.

✓ **Ficha de acompanhamento dos pacientes:**

Universidade de São Paulo  
Faculdade de Ciências Farmacêuticas  
Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos



Universidade Federal do Rio Grande do Norte  
Centro de Ciências da Saúde  
Departamento de Nutrição

FICHA DE ACOMPANHAMENTO				Nº
<b>DADOS DE IDENTIFICAÇÃO</b>			<i>Data:</i>	
Nome:				
Data de Nascimento:		Idade:		Sexo: M ( ) ( ) F
Endereço:				
Nº	Apto:	Bairro:	Cidade:	
Tel:			Profissão:	
<b>HISTÓRIA E DIAGNÓSTICO CLÍNICO / QUEIXAS ATUAIS</b>				
Diagnóstico clínico:				
História clínica / Queixas atuais:				
Data da angioplastia:				
<b>DOENÇAS ASSOCIADAS:</b>				
Diabetes Tipo 1		Hipertensão		
Diabetes Tipo 2		Dislipidemias		
Doença Renal		Obesidade		
Hipo/Hipertireoidismo		Hepatopatia		
Outras:				
<b>MEDICAÇÕES:</b>				
<b>HÁBITOS DE VIDA:</b>				
Tabagismo:		Etilismo:		
Atividade física		Alimentação		
		• Quantas refeições		
		• Local		
		• Quem prepara		
Atv. Ocupacional:		Atv. Lazer:		
Atv. Doméstica:		Sono:		
<b>AValiação ANTROPOMÉTRICA</b>				
Data/Parâmetros	Peso	Estatura	IMC	CA

Cateterismo Cardíaco	Data:

AVALIAÇÃO BIOQUÍMICA:				
Exames	Data 1	Resultados (T0)	Data 2	Resultados (T1)
Triacilgliceróis				
Colesterol Total				
HDL				
LDL				
Glicemia de jejum				
AST				
ALT				
PCR-US				

DATAS DOS RETORNOS					
	1ª Coleta	Retorno 1	Retorno 2	Retorno 3	2ª Coleta
Datas					
Local					

✓ Cartilha Educativa (Capa)

Apoio



Natal Hospital Center

hu  
HOSPITAL UNIVERSITÁRIO  
ONOFRE LOPES



# *Aterosclerose*

## Orientações para uma alimentação saudável



✓ **Parecer Comitê de Ética UFRN**



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO NORTE  
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA DO HOSPITAL  
UNIVERSITÁRIO ONOFRE LOPES (CEP-HUOL)**

**CERTIFICADO**

O Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário Onofre Lopes (CEP-HUOL), devidamente reconhecido pela Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP/MS), analisou o projeto:

**Título: Efeito da suplementação com minerais antioxidantes em pacientes com aterosclerose tratados com estatinas.**

**Pesquisador Responsável: Karine Cavalcanti Maurício de Sena**

Este projeto foi aprovado em seus aspectos éticos e metodológicos, incluindo o termo de consentimento livre e esclarecido, de acordo com as diretrizes da Resolução 196/96 e complementares, do Conselho Nacional de Saúde, em reunião plenária do CEP-HUOL realizada no dia 23 de novembro de 2006. Toda e qualquer alteração no projeto/protocolo de pesquisa, assim como eventos adversos que venham a ocorrer deverão ser comunicados imediatamente ao CEP-HUOL. O relatório final do projeto ou a cópia de sua publicação deverá ser encaminhado ao CEP/HUOL após o término do estudo, conforme cronograma, com a respectiva cópia da folha de rosto.

Natal, 23 de novembro de 2006.

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Aldo da Cunha Medeiros', written over a horizontal line.

**Dr. Aldo da Cunha Medeiros  
Coordenador do CEP-HUOL**

**PROF. ALDO DA CUNHA MEDEIROS  
COORDENADOR DO CEP/HUOL**



## ✓ Parecer Comitê de Ética USP

**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO**Faculdade de Ciências Farmacêuticas  
Comitê de Ética em Pesquisa - CEPOfício CEP nº 04/2007

São Paulo, 6 de fevereiro de 2007.

Ilmo(a). Sr(a).  
Karine Cavalcanti Maurício de Sena  
Orientador Profa. Dulcinéia Saes Parra Abdalla  
FBC

Prezado(a) Senhor(a),

O Comitê de Ética em Pesquisa da FCF/USP, em reunião realizada em 27 de novembro de 2006, **APROVOU** o projeto "Efeito da suplementação com minerais antioxidantes em pacientes com aterosclerose tratados com estatinas" (Protocolo CEP nº 401) 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,

Prof. Dra. Valentina Porta  
Coordenadora do Comitê de Ética Pesquisa  
FCF/USP

✓ **Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE)**

Universidade de São Paulo  
Faculdade de Ciências Farmacêuticas  
Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos



Universidade Federal do Rio Grande do Norte  
Hospital Universitário Onofre Lopes  
Departamento de Nutrição

**TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO**

O Sr(a) está sendo convidado(a) a participar como voluntário em uma pesquisa. Após ser esclarecido(a) sobre as informações a seguir e caso aceite fazer parte do estudo, assine ao final deste documento, em duas vias. Uma delas é sua e a outra é do pesquisador responsável. Sua colaboração neste estudo será de muita importância para nós, mas se desistir, a qualquer momento, isso não causará nenhum prejuízo ao(a) Sr (a).

**I – DADOS DE IDENTIFICAÇÃO DO PARTICIPANTE****1. Nome do Paciente:**

RG Nº	CPF:	Sexo: ( ) M ( ) F
-------	------	-------------------

Data de Nascimento:

Endereço:

Nº	Apto:	Bairro:	Cidade:
----	-------	---------	---------

CEP:	Tel:
------	------

**II – DADOS SOBRE A PESQUISA**

**1. Título da Pesquisa:** Efeito da suplementação com minerais antioxidantes em pacientes com aterosclerose tratados com estatinas

**2. Pesquisador Responsável:** Karine Cavalcanti Maurício de Sena

**3. Cargo/Função:** Professor **Inscrição Conselho Regional Nº:** CRN 3070

**4. Departamento da FCF/USP:** Alimentos e Nutrição Experimental **Departamento da UFRN:** Departamento de Nutrição e Hospital Universitário Onofre Lopes

**5. AVALIAÇÃO DO RISCO DA PESQUISA**

Risco Mínimo ( ) Risco Médio ( ) Risco Baixo ( x ) Risco Maior ( )

**III – EXPLICAÇÕES SOBRE A PESQUISA:**

Os minerais zinco e selênio são muito importantes para a proteção do organismo contra as complicações das doenças do coração. O presente estudo tem com objetivo avaliar o efeito da suplementação com minerais zinco e selênio, em pacientes com aumento de colesterol no sangue, identificando o efeito destes minerais em conjunto com o uso da medicação para baixar o colesterol do seu organismo e melhorar sua saúde.

Durante a sua participação neste estudo, o(a) Sr(a) será submetido aos seguintes procedimentos: (1) Duas coletas de 30 mL de sangue, uma no primeiro momento do estudo e outra após 4 meses do uso da medicação e suplemento para avaliar o nível de gordura no sangue, minerais e substâncias de proteção; (2) Medidas de peso, altura, cintura e quadril, para avaliação da distribuição da gordura do seu corpo; (3) Preenchimento de formulário para a avaliação da sua dieta; (4) Uso da medicação prescrita pelo médico e do suplemento de zinco e selênio diariamente durante o período de 4 meses. No estudo, serão formados ao acaso dois grupos de pacientes: Grupo 1: os que receberão o medicamento para baixar o colesterol e o suplemento de minerais; Grupo 2: os que receberão o medicamento para baixar o colesterol e placebo (comprimido semelhante ao do suplemento de minerais, porém sem o produto). Ao aceitar participar do estudo, o (a) Sr.(a) deve estar disposto a vir ao Hospital Onofre Lopes ou Natal Hospital Center mensalmente para receber os medicamentos e suplementos ou placebo suficientes para 1 mês, durante 4 meses. O Sr(a) receberá por escrito os resultados dos exames realizados e caso seja detectada alguma alteração, o Sr(a) será comunicado para que tenha assistência à saúde.

Os riscos possíveis associados à participação neste estudo são aqueles referentes à coleta de sangue, por exemplo, leves manchas roxas no local onde foi retirado o sangue em alguns casos. Para tanto, as coletas serão realizadas no Laboratório do Hospital Universitário Onofre Lopes ou Natal Hospital Center por profissionais treinados e qualquer intercorrência será encaminhada para o Serviço de Pronto-Atendimento do Hospital. A medicação (rosuvastatina), prescrita pelo médico é utilizada para diminuir os depósitos de gordura da parede dos



vasos sanguíneos, facilitando a passagem do sangue. Esta pode causar as seguintes reações adversas de acordo com a bula do fabricante - **Raras:** efeitos musculares desagradáveis e reações alérgicas graves, que podem afetar as vias respiratórias; - **Incomuns:** reações leves que desaparecem rapidamente como coceira, vermelhidão e reações alérgicas na pele; - **Comuns:** dor de cabeça, dores musculares, dor de estômago, sensação geral de fraqueza, prisão de ventre, tontura e mal-estar. O uso dos suplementos de zinco e selênio nas dosagens recomendadas não apresenta efeitos colaterais. Qualquer efeito deve ser comunicado aos pesquisadores responsáveis, e dependendo do caso, o tratamento será suspenso.

Os benefícios são diminuição da gordura do sangue devido ao medicamento. O zinco e o selênio são minerais que auxiliam na melhora da resistência do organismo contra as doenças. Os resultados deste trabalho poderão ajudar na definição de melhor tratamento para pessoas com aumento de colesterol no sangue.

#### IV – ESCLARECIMENTOS SOBRE GARANTIAS DO PARTICIPANTE DA PESQUISA

Como participante desta pesquisa o(a) Sr(a) saberá dos resultados obtidos e permitirá o acesso dos mesmos aos pesquisadores envolvidos e membros da Comissão de Ética. Os resultados deste trabalho poderão ser apresentados em congressos, publicados em revistas científicas, sendo a identidade do Sr (a) preservada.

O Sr(a) poderá saber, a qualquer momento, informações sobre os procedimentos, riscos e benefícios da pesquisa, podendo consultar os pesquisadores sempre que precisar de informações ou explicações das dúvidas sobre o projeto de pesquisa e sua participação no mesmo. Além disso, o Sr(a) terá direito à privacidade e todas as informações obtidas registradas em prontuários clínicos permanecerão confidenciais, no âmbito da lei, assegurando à proteção de sua imagem e identidade.

Está garantida ao Sr(a) a liberdade de retirar seu consentimento a qualquer momento e de deixar de participar da pesquisa, sem que isso traga qualquer prejuízo à sua saúde ou bem estar físico e não atrapalhará o seu acompanhamento.

A participação no estudo não acarretará custos para o (a) Sr(a) e não será disponível nenhuma compensação financeira adicional, porém em caso de haver gastos com transporte, alimentação, poderá ser oferecida a quantia referente a estes gastos. Em caso de danos à saúde o(a) Sr(a) terá o seu atendimento assegurado pelo Hospital.

Solicitamos antecipadamente sua autorização para a realização de análises complementares com as amostras coletadas, caso seja necessário.

#### V – INFORMAÇÕES DE NOMES, ENDEREÇOS E TELEFONES DOS RESPONSÁVEIS PELO ACOMPANHAMENTO DA PESQUISA, PARA CONTATO EM CASO DE PROBLEMAS

Em caso de intercorrências, reações adversas, dúvidas, falar com: **Pesquisadora Karine Cavalcanti Maurício de Sena**- Endereço: Rua Gen. Gustavo Cordeiro de Farias, s/n - Petrópolis CEP: 59010-180 - Natal-RN, E-mail: [kcmsena@ufrnet.br](mailto:kcmsena@ufrnet.br), Fones: (84) 3215-4323/(84) 9407-7199/(11) 9158-7687; **Comitê de Ética em Pesquisa HUOL-UFRN**, Rua Nilo Peçanha, 620, Petrópolis, CEP: 59012-300 - Natal/RN - E-mail: [cep\\_huol@yahoo.com.br](mailto:cep_huol@yahoo.com.br), Fone: (84) 3202-3719 – R.268; **Comitê de Ética em Pesquisa CEP-FCF/USP**, Av. Prof. Lineu Prestes, 580 - Bloco 13 A – Superior – CEP: 05508-900 -São Paulo – SP – E-mail: [cepcf@usp.br](mailto:cepcf@usp.br), Fone/Fax: (11) 3813-5093.

#### VII – CONSENTIMENTO PÓS-ESCLARECIDO

Eu discuti com a pesquisadora sobre a minha decisão em participar. Ficaram claros para mim quais são os propósitos do estudo, os procedimentos a serem realizados, seus desconfortos e riscos, as garantias de confidencialidade e de esclarecimentos permanentes. Ficou claro também que a minha participação é não vai ter despesas e que tenho garantia do acesso a tratamento. Portanto, declaro que, após convenientemente esclarecido pelo pesquisador e ter entendido o que me foi explicado, consinto em participar do presente Protocolo de Pesquisa.

Natal, \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_.

\_\_\_\_\_  
Assinatura do sujeito da pesquisa  
ou responsável legal

\_\_\_\_\_  
Assinatura do pesquisador  
(carimbo ou nome legível)

✓ **Ficha para controle dos suplementos/placebo distribuídos aos pacientes**

Lote	Código	Paciente	Grupo		Data 1º Mês	Data 2º Mês	Data 3º Mês	Data 4º Mês
	P1		<input type="checkbox"/> Placebo	<input type="checkbox"/> Tratado				
	P2		<input type="checkbox"/> Placebo	<input type="checkbox"/> Tratado				
	P3		<input type="checkbox"/> Placebo	<input type="checkbox"/> Tratado				
	P4		<input type="checkbox"/> Placebo	<input type="checkbox"/> Tratado				
	P5		<input type="checkbox"/> Placebo	<input type="checkbox"/> Tratado				
	P6		<input type="checkbox"/> Placebo	<input type="checkbox"/> Tratado				
	P7		<input type="checkbox"/> Placebo	<input type="checkbox"/> Tratado				
	P8		<input type="checkbox"/> Placebo	<input type="checkbox"/> Tratado				
	P9		<input type="checkbox"/> Placebo	<input type="checkbox"/> Tratado				
	P10		<input type="checkbox"/> Placebo	<input type="checkbox"/> Tratado				
	P11		<input type="checkbox"/> Placebo	<input type="checkbox"/> Tratado				
	P12		<input type="checkbox"/> Placebo	<input type="checkbox"/> Tratado				
	P13		<input type="checkbox"/> Placebo	<input type="checkbox"/> Tratado				
	P14		<input type="checkbox"/> Placebo	<input type="checkbox"/> Tratado				
	P15		<input type="checkbox"/> Placebo	<input type="checkbox"/> Tratado				
	P16		<input type="checkbox"/> Placebo	<input type="checkbox"/> Tratado				
	P17		<input type="checkbox"/> Placebo	<input type="checkbox"/> Tratado				
	P18		<input type="checkbox"/> Placebo	<input type="checkbox"/> Tratado				
	P19		<input type="checkbox"/> Placebo	<input type="checkbox"/> Tratado				
	P20		<input type="checkbox"/> Placebo	<input type="checkbox"/> Tratado				
	P21		<input type="checkbox"/> Placebo	<input type="checkbox"/> Tratado				
	P22		<input type="checkbox"/> Placebo	<input type="checkbox"/> Tratado				
	P23		<input type="checkbox"/> Placebo	<input type="checkbox"/> Tratado				
	P24		<input type="checkbox"/> Placebo	<input type="checkbox"/> Tratado				
	P25		<input type="checkbox"/> Placebo	<input type="checkbox"/> Tratado				
	P26		<input type="checkbox"/> Placebo	<input type="checkbox"/> Tratado				
	P27		<input type="checkbox"/> Placebo	<input type="checkbox"/> Tratado				
	P28		<input type="checkbox"/> Placebo	<input type="checkbox"/> Tratado				
	P29		<input type="checkbox"/> Placebo	<input type="checkbox"/> Tratado				
	P30		<input type="checkbox"/> Placebo	<input type="checkbox"/> Tratado				
	P31		<input type="checkbox"/> Placebo	<input type="checkbox"/> Tratado				
	P32		<input type="checkbox"/> Placebo	<input type="checkbox"/> Tratado				







## UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

Faculdade de Ciências Farmacêuticas  
Secretaria de Pós-Graduação

### Informações para os Membros de Bancas Julgadoras de Mestrado/Doutorado

1. O candidato fará uma apresentação oral do seu trabalho, com duração máxima de trinta minutos.

2. Os membros da banca farão a arguição oral. Cada examinador disporá, no máximo, de trinta minutos para arguir o candidato, exclusivamente sobre o tema do trabalho apresentado, e o candidato disporá de trinta minutos para sua resposta.

2.1 Com a devida anuência das partes (examinador e candidato), é facultada a arguição na forma de diálogo em até sessenta minutos por examinador.

2.2 Tempo máximo total de arguição: 3 horas para o mestrado e 5 horas para o doutorado.

3. Não serão permitidas correções na dissertação/tese. Assim, havendo extrema necessidade, poderá ser incluída uma errata.

4. A sessão de defesa será aberta ao público.

5. Terminada a arguição por todos os membros da banca, a mesma se reunirá reservadamente e expressará na ata (relatório de defesa) a aprovação ou reprovação do candidato, baseando-se no trabalho escrito e na arguição.

5.1 Será considerado aprovado o aluno que obtiver aprovação por unanimidade ou pela maioria da banca.

5.2 Caso algum membro da banca reprove o candidato, a Comissão Julgadora deverá emitir um parecer a ser escrito em campo exclusivamente indicado na ata.

6. Dúvidas poderão ser esclarecidas junto à Secretaria de Pós-Graduação: [pgfarma@usp.br](mailto:pgfarma@usp.br), (11) 3091 3621.

São Paulo, 11 de dezembro de 2009.

Profa. Dra. Bernadette D. G. M. Franco  
Presidente da CPG/FCF/USP

# Livros Grátis

( <http://www.livrosgratis.com.br> )

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)  
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)  
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)  
[Baixar livros de Matemática](#)  
[Baixar livros de Medicina](#)  
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)  
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)  
[Baixar livros de Meteorologia](#)  
[Baixar Monografias e TCC](#)  
[Baixar livros Multidisciplinar](#)  
[Baixar livros de Música](#)  
[Baixar livros de Psicologia](#)  
[Baixar livros de Química](#)  
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)  
[Baixar livros de Serviço Social](#)  
[Baixar livros de Sociologia](#)  
[Baixar livros de Teologia](#)  
[Baixar livros de Trabalho](#)  
[Baixar livros de Turismo](#)