

## ARTIGO ORIGINAL

## Status do Zinco e sua Relação com Biomarcadores de Risco Cardiovascular

### Zinc Status of and its Association to Cardiovascular Risk Biomarkers

Camila Maria Simplicio Revoredo<sup>1</sup>, Heila Dias de Sousa Pinho Aguiar<sup>1</sup>, Sueli Maria Teixeira Lima<sup>1</sup>, Elise Sousa Saffnauer<sup>1</sup>, Kaluce Gonçalves de Sousa Almondes<sup>2</sup>, Aldenora Oliveira do Nascimento Holanda<sup>1</sup>, Camila Guedes Borges de Araújo<sup>1</sup>, Nadir do Nascimento Nogueira<sup>1</sup>, Dilina do Nascimento Marreiro<sup>1</sup>

Universidade Federal do Piauí (UFPI)<sup>1</sup>, Teresina, PI; Universidade de São Paulo<sup>2</sup>, São Paulo, SP – Brasil

### Resumo

**Fundamento:** A ação antioxidante de alguns nutrientes é importante na proteção vascular. O zinco, em particular, tem sido associado a um risco reduzido de aterosclerose, acidente vascular cerebral e trombose.

**Objetivo:** O estudo avaliou o *status* do zinco e sua relação com biomarcadores de risco cardiovascular em adultos saudáveis.

**Métodos:** Estudo transversal com 186 estudantes universitários de ambos os sexos, com idades entre 20 e 30 anos, selecionados através de amostra por conveniência. As medições dos biomarcadores de risco cardiovascular incluíram o perfil lipídico, o índice de Castelli I e II e circunferência da cintura. O zinco dietético foi avaliado por registro alimentar de três dias utilizando o programa NutWin versão 1.6.0.7. As concentrações plasmáticas e de eritrócitos do mineral foram determinadas por espectrofotometria de absorção atômica com chama. O perfil lipídico foi determinado pelo método enzimático colorimétrico.

**Resultados:** Os valores médios do consumo de zinco estavam superiores à NME (Necessidade Média Estimada) em ambos os sexos. Os participantes apresentaram concentrações médias de zinco no plasma e eritrócitos inferiores aos pontos de corte. Os valores médios do perfil lipídico, índice de Castelli I e II, e circunferência da cintura estavam adequados. Houve correlação negativa entre o zinco dietético e colesterol total e triglicérides.

**Conclusões:** Os participantes têm uma ingestão elevada de zinco e apresentam concentrações plasmáticas e eritrocitárias reduzidas do mineral. Além disso, esse estudo revelou uma associação negativa entre a ingestão de zinco dietético e o colesterol total e triglicérides, biomarcadores do risco cardiovascular, sugerindo a importância do zinco na proteção contra doenças cardiovasculares. (Int J Cardiovasc Sci. 2016;29(5):355-361)

**Palavras-chave:** Doenças Cardiovasculares / mortalidade, Biomarcadores, Antioxidantes, Adulto.

### Abstract

**Background:** The antioxidant action of some nutrients is important in vascular protection. Zinc, particularly, has been associated with reduced risk of atherosclerosis, stroke and thrombosis.

**Objective:** The study evaluated zinc status and its association to cardiovascular risk biomarkers in healthy adults.

**Methods:** Cross-sectional study with 186 university students of both genders, aged between 20 and 30 years, selected using the convenience sampling method. The cardiovascular risk biomarker measurements included the lipid profile, Castelli index I and II, and waist circumference. Zinc analysis was performed by a three-days food record using NutWin program version 1.6.0.7. Plasma and erythrocyte mineral concentrations were determined by flame atomic absorption spectrophotometry. The lipid profile was determined by enzymatic colorimetric methods.

**Results:** The mean values of zinc intake were higher than the EAR in both genders. Participants had mean plasma and erythrocyte zinc concentrations lower than the cutoff points. The mean values of the lipid profile, Castelli index I and II, and waist circumference were adequate. There was a negative correlation between dietary zinc and total cholesterol and triglycerides.

**Conclusions:** The participants have a high dietary zinc intake and reduced plasma and erythrocyte concentrations of this mineral. Additionally, this study showed a negative association between zinc dietary intake and total cholesterol and triglycerides, biomarkers of cardiovascular risk, suggesting the importance of zinc in protecting against cardiovascular disease. (Int J Cardiovasc Sci. 2016;29(5):355-361)

**Keywords:** Cardiovascular Diseases / mortality; Biomarkers; Antioxidants; Adult.

(Full texts in English - <http://www.onlinejcs.org>)

### Correspondência: Camila Maria Simplicio Revoredo

Rua Alcides Freitas, 2066, Apt. 01. CEP: 64002-480, Marquês. Teresina, PI – Brasil  
E-mail: camilarevoredoufpi.edu.br; camilarevoredou@yahoo.com.br

## Introdução

A doença cardiovascular é uma das principais causas de morbidade e mortalidade em todo o mundo. As Interações entre fatores ambientais e genéticos resultam em aumento do risco para essa doença. Estudos clínicos e observacionais têm mostrado a relação entre as características quantitativas e qualitativas da dieta e ocorrência de doenças cardiovasculares, uma vez que certos componentes da dieta podem estar envolvidos no metabolismo de lipoproteínas.<sup>1,2</sup>

Por outro lado, a ação antioxidante de alguns nutrientes é importante na proteção vascular. O zinco, em particular, atua no sistema de defesa antioxidante, contribuindo para a ação de várias enzimas envolvidas nesse processo e, por conseguinte, tem sido associado a um risco reduzido de aterosclerose, acidente vascular cerebral e trombose.<sup>3,4</sup>

O zinco pode desempenhar um papel importante nas enzimas envolvidas no metabolismo de lipídios. Tem sido sugerido que a suplementação de zinco pode ser eficaz na redução significativa nas concentrações de triglicérides (TG), colesterol total (CT) e lipoproteínas de baixa densidade (LDL-C).<sup>5-7</sup>

Portanto, as alterações nas concentrações de zinco podem estar associadas com a redução da atividade antioxidante e, conseqüentemente, com um maior risco de desenvolver doenças cardiovasculares.<sup>8,9</sup> Portanto, esse estudo tem como objetivo avaliar o *status* do zinco e sua associação com os biomarcadores de risco cardiovascular em adultos saudáveis.

## Métodos

Estudo transversal, realizado com 186 indivíduos saudáveis utilizando o método de amostragem por conveniência, com estudantes de graduação de uma universidade, de ambos os sexos, com idades entre 20 e 30 anos. Os voluntários foram recrutados a partir de uma chamada pública e os participantes foram selecionados através de um formulário de inscrição.

Os alunos que participaram do estudo preencheram os seguintes critérios de elegibilidade: não tinham doenças crônicas não transmissíveis (doenças cardiovasculares, diabetes mellitus, obesidade e câncer), doença hepática e distúrbios da tireoide; não estavam utilizando suplemento vitamínico-mineral e/ou outros medicamentos que pudessem interferir no estado nutricional do zinco.

Esta pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal do Piauí.

## Avaliação do Estado Nutricional

O índice de massa corporal foi calculado a partir do peso corporal do participante dividido pelo quadrado da altura. A classificação do estado nutricional, com base na distribuição do índice de massa corporal, foi realizada de acordo com a recomendação da Organização Mundial da Saúde.<sup>10</sup>

## Determinação do zinco na dieta

Para a avaliação do consumo de alimentos, usou-se o registro alimentar de três dias, e as quantidades de zinco na dieta foram calculadas utilizando o programa "NutWin" versão 1.5.<sup>11</sup> Depois da análise da composição da dieta, o zinco foi ajustado para a energia através do método residual.<sup>12</sup> Para verificar a adequação da ingestão dietética de zinco, foi utilizada como referência a Necessidade Média Estimada (NME), de 6,8 mg Zn/dia para as mulheres e 9,4 mg Zn/dia para os homens, com idades entre 20 e 30 anos.<sup>13</sup>

## Coleta de material biológico

Uma amostra de 20 mL de sangue foi coletada no período da manhã, após pelo menos 12 horas de jejum. O sangue coletado foi distribuído em tubos separados: (1) tubo de vidro contendo 30% de citrato de sódio como anticoagulante (10 µL/mL de sangue) para análise do zinco (10 mL); (2) e para determinar a atividade da enzima SOD (5 mL); (3) tubo sem anticoagulante para determinar o perfil lipídico (5 mL).

## Determinação de parâmetros bioquímicos do zinco

A análise do zinco no plasma e eritrócitos foi realizada usando-se espectrometria de absorção atômica de chama, de acordo com o método descrito por Rodriguez et al.<sup>14</sup> Todos os materiais utilizados para a coleta e análise do mineral foram previamente desmineralizados e a precisão e acurácia e precisão do método foram verificadas utilizando-se padrões certificados e padrões secundários para plasma e eritrócitos. Os valores de referência são os seguintes: Plasma: 70-110 µg/dL<sup>15</sup> e eritrócitos: 40 - 44 µg/gHb.<sup>16</sup>

## Biomarcadores de risco cardiovascular

### Determinação das concentrações de lípides séricos

O método enzimático colorimétrico foi usado para avaliar as concentrações séricas de triglicérides, colesterol total, HDL-colesterol, LDL-colesterol e de VLDL-colesterol. O HDL foi determinado após a precipitação das frações LDL e VLDL. As frações LDL e VLDL foram calculadas a partir da equação:  $LDL - c = TC - (VLDL - c + HDL - c)$ ;  $VLDL - c = \text{triacilglicerol}/5$ , usando os valores de referência de acordo com as recomendações da V Diretriz Brasileira de Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose, da Sociedade Brasileira de Cardiologia.<sup>17</sup>

### Determinação de Índices de Risco de Castelli I e II

Para determinar o risco de doença cardiovascular, foram utilizados os índices de risco de Castelli I e II, que correspondem à razão entre colesterol total e HDL-colesterol e à razão entre LDL-colesterol e de HDL-colesterol, respectivamente. Os valores de referência são: índice de Castelli I  $\leq 4,3$  mg/dL; Índice de Castelli II  $\leq 2,9$  mg/dL.<sup>18</sup>

### Determinação da circunferência da cintura

A medida da circunferência da cintura foi realizada utilizando-se uma fita flexível, inelástica, sendo considerados os valores de referência da Organização Mundial da Saúde.<sup>19</sup>

## Análise estatística

Os dados foram analisados usando o software estatístico SPSS 18.0 para Windows. O teste de Kolmogorov-Smirnov foi aplicado para verificar a normalidade dos dados e o teste de Levene para homogeneidade das

variâncias. Para comparar os grupos, foi utilizado o teste *t* de Student para valores paramétricos e o teste de Mann-Whitney para valores não paramétricos, com um nível de significância de  $p < 0,05$ . As variáveis foram expressas como médias  $\pm$  desvio padrão, e as comparações entre os grupos feitas pelo teste *t* não pareado. O coeficiente de correlação de Pearson foi utilizado para verificar a potencial inter-relação entre as variáveis.

## Resultados

A Tabela 1 mostra a média e o desvio padrão para os parâmetros idade e antropométricos, utilizados para avaliar o estado nutricional dos participantes.

A ingestão de zinco dietético foi avaliada com base na ingestão média da amostra do estudo. Os valores médios de zinco ajustados foram superiores à NME (11,21  $\pm$  4,01 mg/dia), com diferença estatística entre os sexos ( $p < 0,05$ ), com 10,65  $\pm$  3,99 mg/dia para mulheres e 11,91  $\pm$  3,97 mg/dia para homens.

A média e desvio padrão dos parâmetros de zinco dos participantes são apresentados na Tabela 2. Os valores de zinco no plasma foram ajustados somente para indivíduos do sexo masculino, com diferença estatisticamente significativa em relação às mulheres. Ambos os grupos apresentaram valores de deficientes de zinco no compartimento eritrocitário.

A média e o desvio-padrão do perfil lipídico sérico dos participantes são mostrados na Tabela 3. Foi encontrada diferença estatisticamente significativa entre os indivíduos do sexo feminino e masculino em relação ao HDL-colesterol, índices de Castelli I e II, e circunferência da cintura, e também estão de acordo com os valores de referência para baixo risco cardiovascular.

**Tabela 1**

Média e desvio padrão dos indicadores antropométricos e idade dos participantes

Parâmetro	Total (n=186) Média $\pm$ DP	Mulheres (n=99) Média $\pm$ DP	Homens (n=87) Média $\pm$ DP	p-valor
Idade (anos)	22,46 $\pm$ 2,24	22,29 $\pm$ 2,20	22,64 $\pm$ 2,27	0,271
Peso (kg)	61,18 $\pm$ 11,07	55,92 $\pm$ 8,64	67,18 $\pm$ 10,49	< 0,001*
Altura (m)	1,67 $\pm$ 0,083	1,62 $\pm$ 0,065	1,72 $\pm$ 0,067	< 0,001*
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	21,95 $\pm$ 3,03	21,33 $\pm$ 2,88	22,65 $\pm$ 3,07	< 0,003*

DP: Desvio Padrão; IMC: Índice de Massa Corporal; (\*) Valores significativamente diferentes entre os sexos, teste de Mann-Whitney ( $p < 0,05$ ) ou *t* de Student ( $p < 0,05$ ).

**Tabela 2**  
Média e desvio padrão de zinco plasmático e eritrocitário dos participantes

Parâmetro	Total (n=186) Média ± DP	Mulheres (n=99) Média ± DP	Homens (n=87) Média ± DP	p-valor
Zinco plasmático (µg/dL)	68,64 ± 14,68	65,97 ± 14,40	71,69 ± 14,47	0,008*
Zinco eritrocitário (µg/g Hb)	32,96 ± 9,72	32,20 ± 10,27	33,83 ± 9,03	0,255

DP: Desvio Padrão; (\*) Valor significativamente diferente entre os sexos, teste t de Student ( $p < 0,05$ ); valores de referência: zinco plasmático 70-110 mg/dL<sup>15</sup>; Zinco eritrocitário 40-44 µgZn/gHb.<sup>16</sup>

**Tabela 3**  
Média e desvio-padrão dos biomarcadores de risco cardiovascular dos participantes

Biomarcadores para RC	Total (n=186) Média ± DP	Mulheres (n=99) Média ± DP	Homens (n=87) Média ± DP	p-valor
CT (mg/dL)	170,05 ± 35,35	172,62 ± 33,44	167,12 ± 37,38	0,294
LDL-c (mg/dL)	99,77 ± 29,66	97,86 ± 28,50	101,94 ± 30,96	0,535
HDL-c (mg/dL)	50,48 ± 13,70	54,99 ± 14,82	45,34 ± 10,16	< 0,001*
TG (mg/dL)	96,00 ± 65,13	92,75 ± 74,84	99,71 ± 52,12	0,116
Castelli I (mg/dL)	3,56 ± 1,11	3,34 ± 1,14	3,82 ± 1,02	< 0,001*
Castelli II (mg/dL)	2,12 ± 0,87	1,93 ± 0,85	2,34 ± 0,84	< 0,001*
CC (cm)	74,27 ± 8,74	70,41 ± 7,34	78,66 ± 8,16	< 0,001*

RC: risco cardiovascular; DP: Desvio Padrão; CT: Colesterol Total; LDL-c: lipoproteína de baixa densidade; HDL-c: lipoproteína de alta densidade; TG: Triglicérides; CC: circunferência da cintura; (\*) Valores significativamente diferentes entre os sexos, teste t de Student ( $p < 0,05$ ) ou teste de Mann-Whitney ( $p < 0,05$ ).

Os resultados da análise de correlação entre os parâmetros de zinco e biomarcadores de risco cardiovascular dos participantes estão descritos na Tabela 4. Houve uma correlação negativa entre o zinco dietético e colesterol total e triglicérides ( $p < 0,05$ ).

## Discussão

Nesse estudo foram determinados os parâmetros bioquímicos do zinco e os biomarcadores de risco cardiovascular em adultos saudáveis, sendo também realizada uma análise de correlação entre as variáveis.

As concentrações médias de zinco plasmático dos indivíduos avaliados estavam abaixo do normal; no entanto, quando classificados por sexo, o grupo masculino apresentou níveis plasmáticos adequados, que foram estatisticamente e significativamente maiores do

que nas mulheres. Esses resultados estão de acordo com aqueles obtidos por Ghasemi et al.<sup>20</sup> e Hussain et al.,<sup>21</sup> que também encontraram concentrações de zinco plasmático mais elevadas nesse grupo.

Os níveis de zinco plasmático mais elevados em homens pode ser o resultado do *turnover* de proteína, que é proporcional à massa muscular encontrada em homens, bem como as concentrações de albumina sérica, que são mais elevadas nesse grupo.<sup>22</sup> Desse modo, destaca-se que o metabolismo de proteínas parece contribuir para a mobilização de zinco a partir do tecido muscular para o plasma. Por outro lado, concentrações de zinco reduzidas em mulheres podem estar associadas com a ação dos hormônios estrogênio e progesterona durante a ovulação e a fase lútea do ciclo menstrual, que direciona esse mineral do plasma para o endométrio.<sup>23</sup>

**Tabela 4**  
**Análise de correlação linear simples entre os parâmetros de zinco e biomarcadores de risco cardiovascular**

Biomarcador de RC	Zinco Dietético (mg)		Zinco Eritrocitário (µg/g Hb)		Zinco Plasmático (µg/ dL)	
	r	p	r	p	r	p
CT	-0,163	0,026*	-0,015	0,842	0,056	0,449
LDL-c	-0,077	0,299	0,006	0,938	0,063	0,390
HDL-c	-0,065	0,380	0,080	0,280	-0,070	0,341
TG	-0,160	0,029*	-0,100	0,174	0,059	0,422
Índice de Castelli I	-0,092	0,212	-0,070	0,345	0,054	0,463
Índice de Castelli II	-0,050	0,495	-0,032	0,661	0,041	0,576
CC (cm)	0,061	0,411	-0,017	0,820	0,113	0,125

RC: risco cardiovascular; CT: colesterol total; LDL-c: lipoproteína de baixa densidade; HDL-c: lipoproteína de alta densidade; TG: Triglicérides; CC: circunferência da cintura; (\*) Correlação linear de Pearson ( $p < 0,05$ ).

Os níveis de zinco eritrocitário estavam abaixo dos valores de referência nos indivíduos deste estudo. Da mesma forma, Girish et al.<sup>24</sup> também encontraram concentrações reduzidas desse mineral nos eritrócitos de indivíduos saudáveis. A esse respeito, é interessante mencionar que as concentrações médias de zinco encontradas na dieta consumida pelos participantes foram maiores do que as recomendadas, o que parece não afetar as concentrações plasmáticas e eritrocitárias. Nesse sentido, destacam-se alguns fatores que parecem interferir com as concentrações de zinco nos componentes sanguíneos, tais como redução da absorção e aumento das demandas ou perdas desse mineral.

Não existe um método universalmente aceito para avaliar o estado nutricional de zinco. O plasma é considerado um biomarcador sensível para identificar a deficiência de zinco na população.<sup>25</sup> Além disso, as células vermelhas do sangue são também um biomarcador confiável para analisar os níveis de zinco, pois suas concentrações desse mineral são quase dez vezes maiores do que as do plasma, não refletindo alterações recentes nas concentrações de zinco no corpo, uma vez que têm uma meia-vida mais longa.<sup>15,27</sup>

Quanto aos parâmetros do perfil lipídico, observou-se que os resultados estavam de acordo com as recomendações. Alguns aspectos importantes podem ser destacados nesse estudo, como o tamanho reduzido

da circunferência da cintura e a adequação dos índices de risco de Castelli I e II, dos participantes, fatores que parecem ter contribuído para as frações lipídicas encontradas no estudo.

Deve-se observar que outros estudos sobre esse tema também apresentaram resultados semelhantes. Freitas et al.<sup>27</sup> e Zemdegs et al.<sup>28</sup> também realizaram estudos em estudantes do ensino superior e encontraram marcadores do perfil lipídico e valores de circunferência da cintura normais nos sujeitos do estudo.

É digno de nota que a distribuição de gordura, especialmente a presença de gordura abdominal, é considerada um fator determinante para as alterações do perfil metabólico e, portanto, para o desenvolvimento de doenças cardiovasculares, uma vez que é um tecido com perfil muito lipolítico e que contribui para a dislipidemia.<sup>29,30</sup> Assim, os valores apropriados para esses marcadores encontrados nesse estudo sugerem a redução de risco para essas doenças crônicas.

Quanto à análise de correlação entre os parâmetros de zinco e biomarcadores de risco cardiovascular, foi encontrada uma correlação negativa entre zinco dietético e colesterol total e triglicérides. É importante ressaltar que, mesmo em situações de baixas concentrações de zinco plasmático e eritrocitário, como visto neste estudo, o corpo faz ajustes metabólicos para a mobilização do mineral a partir de um *pool* tecidual, através de

catabolismo tecidual, como por exemplo no músculo, para manter as suas funções fisiológicas.<sup>31</sup> Portanto, sob essas condições, o zinco mobilizado atua sobre a atividade da lipoproteína lipase, que, por sua vez, hidrolisa as frações lipídicas, melhorando o perfil desses marcadores.<sup>32</sup>

Com base nos dados obtidos no presente estudo e de acordo com os biomarcadores avaliados, os participantes do estudo não têm risco de desenvolver doenças cardiovasculares. A ingestão adequada de zinco parece não alterar suas concentrações plasmáticas e eritrocitárias. Além disso, esse estudo demonstrou uma associação negativa entre a ingestão de zinco dietético e colesterol total e triglicerídeos, biomarcadores de risco cardiovascular.

Uma limitação deve ser levada em consideração. A avaliação da ingestão alimentar é suscetível a erros sistemáticos e aleatórios, e pode ser afetada pelo número de dias. De modo a minimizar estes erros, os dados de zinco obtidos foram ajustados com base no consumo de energia e na variação intra-individual.

## Conclusão

Os participantes têm uma alta ingestão de zinco dietético e concentrações plasmáticas e eritrocitárias reduzidas desse mineral. Além disso, esse estudo demonstra uma associação negativa entre a

ingestão de zinco dietético e colesterol total e triglicerídeos, biomarcadores de risco cardiovascular, sugerindo a importância do zinco na proteção contra doenças cardiovasculares.

## Contribuição dos autores

Concepção e desenho da pesquisa: Revoredo CMS, Almondes KGS, Nogueira NN, Marreiro DN. Obtenção de dados: Revoredo CMS, Aguiar HDSP, Lima SMT, Saffnauer ES, Almondes KGS. Análise e interpretação dos dados: Revoredo CMS, Holanda AON, Araújo CGB. Análise estatística: Aguiar HDSP. Redação do manuscrito: Revoredo CMS. Revisão crítica do manuscrito quanto ao conteúdo intelectual importante: Revoredo CMS, Lima SMT, Holanda AON, Araújo CGB, Nogueira NN, Marreiro DN.

## Potencial Conflito de Interesse

Declaro não haver conflito de interesses pertinentes.

## Fontes de Financiamento

O presente estudo não teve fontes de financiamento externas.

## Vinculação Acadêmica

Este artigo é parte de dissertação de Mestrado de Camila Maria Simplicio Revoredo pela Universidade Federal do Piauí (UFPI).

## Referências

- George BO, Osharechiren OI. Oxidative stress and antioxidant status in sportsmen two hours after strenuous exercise and in sedentary control subjects. *Afr J Biotechnol*. 2009;8(3):480-3.
- Velloso JC, Parabocz GC, Manente FA, Ribas JT, Lima LW. Alterações metabólicas e inflamatórias em condições de estresse oxidativo. *Rev Ciênc Farm Básica Apl*. 2013;34(3):305-12.
- Bao B, Prasad AS, Beck FW, Fitzgerald JT, Snell D, Bao GW, et al. 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*. 2010;91(6):1634-41.
- Yang YJ, Choi BY, Chun BY, Kweon SS, Lee YH, Park PS, et al. Dietary zinc intake is inversely related to subclinical atherosclerosis measured by carotid intima-media thickness. *Br J Nutr*. 2010;104(8):1202-11.
- Hughes S, Samman S. The effect of zinc supplementation in humans on plasma lipids, antioxidant status and thrombogenesis. *J Am Coll Nutr*. 2006;25(4):285-91.
- Hooper PL, Visconti L, Garry PJ, Johnson GE. Zinc lowers high-density lipoprotein-cholesterol levels. *JAMA*. 1980;244(17):1960-1.
- Rogalska J, Brzoska MM, Roszczenko A, Moniuszko-Jakoniuk J. Enhanced zinc consumption prevents cadmium-induced alterations in lipid metabolism in male rats. *Chem Biol Interact*. 2009;177(2):142-52.
- Grammer TB, Renner W, Hoffmann MM, Kleber M, Winkelhofer-Roob BM, Boehm BO, et al. SOD3 R231G polymorphism associated with coronary artery disease and myocardial infarction. The Ludwigshafen Risk and Cardiovascular Health (LURIC) study. *Free Radic Res*. 2009;43(7):677-84.
- Duarte M, Moresco RN, De Bem AF. Metodologias para a determinação da LDL oxidada e sua aplicação como marcador de risco cardiovascular. *Rev bras anal clin*. 2008;40(2):101-6.
- World Health Organization. (WHO). Obesity: preventing and managing the global epidemic. Geneva; 2000. (Technical Report Series 894).
- Anção MS, Cuppari L, Draine AS, Singulem D. Programa de apoio à nutrição Nutwin: versão 1.5. São Paulo: Departamento de Informática em Saúde/UNIFESP; 2002.
- Willett W, Stampfer MJ. Implications of total energy intake for epidemiologic analyses. In: Willett W. *Nutrition epidemiology*. 2<sup>nd</sup> ed. New York: Oxford University Press; 1998. p. 514.
- Iron. In: Food and Nutrition Board. Institute of Medicine. Dietary reference intakes for vitamin A, vitamin K, arsenic, boron, chromium, copper, iodine, iron, manganese, molybdenum, nickel, silicon, vanadium, and zinc. Washington, DC: National Academies Press; 2002. p. 290-393.

14. Rodriguez MP, Narizano A, Cid A. A simple method for the determination of zinc human plasma levels by flame atomic absorption spectrophotometry. *At Spectr.* 1989;10(2):68-70.
15. Gibson RS. Principles of nutritional assessment. New York: Oxford University Press; 1990.
16. Guthier HA, Picciano MF. (editors). Human nutrition. New York: Mosby; 1994. p. 351-7.
17. Xavier HT, Izar MC, Faria Neto JR, Assad MH, Rocha VZ, Sposito AC, et al; Sociedade Brasileira de Cardiologia. [V Brazilian Guidelines on Dyslipidemias and Prevention of Atherosclerosis]. *Arq Bras Cardiol.* 2013;101(4 Suppl 1):1-20.
18. Castelli WP, Abbot WD, Mc Namara PM. Summary estimates of cholesterol used to predict coronary heart disease. *Circulation* 1983;67(4):730-4.
19. World Health Organization. (WHO). Waist circumference and waist-hip ratio: report of a WHO Expert Consultation. Geneva; 2008. p. 8-11.
20. Ghasemi A, Zahediasl S, Hosseini-Esfahani F, Azizi F. Reference values for serum zinc concentration and prevalence of zinc deficiency in adult Iranian subjects. *Biol Trace Elem Res.* 2012;149(3):307-14.
21. Hussain W, Mumtaz A, Yasmeen F, Khan SQ, Butt T. Reference range of zinc in adult population (20-29 years) of Lahore, Pakistan. *Pak J Med Sci.* 2014;30(3):545-8.
22. Lockitch G, Halstead AC, Wadsworth L, Quigley G, Reston L, Jacobson B. Age and sex-specific pediatric reference intervals and correlations for zinc, copper, selenium, iron, vitamins A and E, and related proteins. *Clin Chem.* 1988;34(8):1625-8.
23. Ukibe NR, Onyenekwe CC, Ahaneku JE, Ukibe SN, Meludu SC, Emelumadu OF, et al. Evaluation of nutritional status of HIV infected females during menstrual cycle in Nnewi, Anambra state, Nigeria. *Scientific Journal of Medical Science.* 2013;2(9):169-81.
24. Girish BN, Vaidyanathan K, Rayesh G, Balakrishnan V. et al. Effects of micronutrient status on oxidative stress and exocrine pancreatic function in patients with chronic pancreatitis. *Indian J Biochem Biophys.* 2012;49(10):386-91.
25. Gibson RS, Hess SY, Hotz C, Brown KH. Indicators of zinc status at the population level: a review of the evidence. *Br J Nutr.* 2008;99(Suppl 3):S14-23.
26. Yuyama L, Yonekura L, Aguiar JP, Rodrigues ML, Cozzolino SM. Zinco. In: Cozzolino SM. (editor). Biodisponibilidade de nutrientes, 4ª. ed. São Paulo: Manole; 2012. p. 549-73.
27. Freitas RW, Araujo MF, Lima AC, Pereira DC, Alencar AM, Damasceno MM. Análise do perfil lipídico de uma população de estudantes universitários. *Rev Latino-Am Enferm.* 2011;21(5):1:8.
28. Zemdegs JC, Barreto Corsi L, De Castro Coelho L, Duarte Pimentel G, Toyomi Hirai A, Sachs A. Lipid profile and cardiovascular risk factors among first-year Brazilian university students in São Paulo. *Nutr Hosp.* 2011;26(3):553-9.
29. Reis F<sup>o</sup> AD, Coelho CF, Voltarelli FA, Ferrari Jr J, Ravagnani FC, Felt WC, et al. Associação entre variáveis antropométricas, perfil glicêmico e lipídico em mulheres idosas. *Rev Bras Geriatr Gerontol.* 2011;14(4):675-85.
30. Weiss R. Fat distribution and storage: how much, where, and how? *Eur J Endocrinol.* 2007;157(Suppl 1):39-45.
31. King JC. Zinc: an essential but elusive nutrient. *Am J Clin Nutr.* 2011;94(2):679-84.
32. Jones DR, Schmidt RJ, Pickard RT, Foxworthy PS, Eacho PI. Estrogen receptor-mediated repression of human hepatic lipase gene transcription. *J Lipid Res.* 2002;43(3):383-91.