

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA  
INSTITUTO DE QUÍMICA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

**ESTUDO DO MINERALOGRAMA DO SANGUE E DO CABELO  
NO ORGANISMO DE PESSOAS ALCOOLISTAS**

**HELIANE SOUSA DA SILVA**

**Mestrado**

**2012**

Dissertação de Mestrado

**HELIANE SOUSA DA SILVA**

**ESTUDO DO MINERALOGRAMA DO SANGUE E DO CABELO  
NO ORGANISMO DE PESSOAS ALCOOLISTAS**

Dissertação apresentada ao Programa de Mestrado  
em Química da Universidade Federal de  
Uberlândia como requisito para obtenção do título  
de mestre em Química.

Área de concentração: Química Bioinorgânica

Orientadora: Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Sandra Terezinha de Farias  
Furtado

**Uberlândia-MG**

**2012**



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL  
MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA  
INSTITUTO DE QUÍMICA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA



Ata da defesa de DISSERTAÇÃO DE MESTRADO junto ao Programa de Pós-Graduação em Química, do Instituto de Química da Universidade Federal de Uberlândia  
DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE MESTRADO ACADÊMICO, NÚMERO 139/COPGQ.

DATA: 27/02/2012

DISCENTE: Heliane Sousa da Silva

MATRÍCULA: 11012QMI008

TÍTULO DO TRABALHO: Estudo do mineralograma do sangue e do cabelo no organismo de pessoas alcoolistas.

ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: Química

LINHA DE PESQUISA: Química Bioinorgânica

PROJETO DE PESQUISA DE VINCULAÇÃO: Influência dos minerais na saúde do ser humano.

Às nove horas e trinta minutos do dia vinte e sete de fevereiro do ano dois mil e doze, no Auditório D do Bloco 50, Campus Santa Mônica, reuniu-se a Banca Examinadora composta pelas Professoras Doutoras Maria Isabel Ribeiro Alves, da Universidade Federal de Goiânia, GO; Nívia Maria Melo Coelho, do IQUFU e Sandra Terezinha de Farias Furtado, professora orientadora e presidente da mesa. Iniciando os trabalhos, o presidente da mesa apresentou o candidato e a Banca Examinadora, agradeceu a presença do público e discorreu sobre as normas e critérios para a realização desta sessão, baseadas na Norma Interna nº 01/2010/COPGQ. Em seguida, o presidente da mesa concedeu a palavra à candidata para a exposição do seu trabalho e, em sequência, aos examinadores, em ordem sucessiva, para arguir a apresentadora. A duração da apresentação e o tempo de arguição e resposta deram-se conforme as normas do Programa. Ultimada a arguição, desenvolvida dentro dos termos regimentais, a Banca, em sessão secreta, atribuiu os conceitos finais e A provou o candidato. Por sugestão da Banca Examinadora, o título do trabalho será

mantido

Esta defesa de Dissertação de Mestrado Acadêmico é parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre. O competente diploma será expedido após cumprimento do estabelecido nas normas do Programa, legislação e regulamentação internas da UFU. As correções observadas pelos examinadores deverão ser realizadas no prazo máximo de 30 dias. Nada mais havendo a tratar, deu-se por encerrada a sessão às 12 horas e 14 minutos e lavrada a presente ata, que após lida e aprovada, foi assinada pela Banca Examinadora.

Profª Dra. Maria Isabel Ribeiro Alves – UFG

Profª Dra. Nívia Maria Melo Coelho – IQUFU

Orientadora: Profª Dra. Sandra Terezinha de Farias Furtado – IQUFU

## AGRADECIMENTOS

A **Deus**, por ter me dado o dom da vida, por ter derramado chuvas de bênçãos sobre o meu ser, por toda luz e misericórdia emanado do Seu preciosíssimo coração, por toda força que me deu, tornando-me uma pessoa inabalável, mesmo diante dos desafios e dos sofrimentos.

Aos meus pais, **Maria dos Anjos e Joaquim**, por terem me incentivado a lutar sempre pelos meus sonhos, por terem me ensinado a sempre seguir em frente e nunca parar no primeiro obstáculo. Agradeço ainda por todo amor, carinho, paciência e, sobretudo, pelas palavras de conforto e de motivação, reanimando-me e encorajando-me a ficar de pé e ir à busca dos meus ideais.

Ao meu irmão **Rodrigo**, por ter tido paciência comigo, pelo companheirismo, pela amizade e pela compreensão.

Ao meu avô **Virgilino** e ao senhor **Vicente**, pelas lições de vida, incentivo e constantes orações.

À minha orientadora **profª Drª Sandra Terezinha de Farias Furtado** pela confiança, credibilidade, gentileza, incentivo e pelas oportunidades proporcionadas para o meu crescimento científico. Muito obrigada pela orientação recebida e acima de tudo, por ter sido o meu exemplo de competência, profissionalismo e dedicação.

À **profª Drª Nívia Melo Coelho**, do Instituto de Química da UFU, pelo apoio e por ceder o laboratório de química analítica de espectroscopia aplicada para a realização dos meus experimentos.

Ao **profº Drº Lúcio Borges de Araújo**, da Faculdade de Matemática da UFU, por ter me auxiliado com dedicação nas análises estatísticas deste trabalho.

Ao **profº Drº Luis Carlos Marques de Oliveira**, da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Uberlândia, pelo exemplo de competência, ética, seriedade e por ter me ajudado a recrutar os pacientes para o desenvolvimento deste trabalho.

Ao **profº Drº Carlos Alberto de Oliveira**, do Instituto de Química da Universidade Federal de Uberlândia, pela atenção, amizade e por ter feito as coletas de sangue para a padronização das análises.

À **profª Drª Dáurea Abadia** e à **profª Drª Grazielle Benedetti**, da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Uberlândia, por terem me auxiliado nas análises do questionário que avalia a alimentação dos pacientes.

Ao pessoal do laboratório de espectroscopia aplicada, as doutorandas **Ione, Helen e Vanessa**; aos mestrandos **Gabriela, Thiago e Bruno**, e ao aluno de I.C. **Eliezer**, por todo apoio e assistência que me deram nos experimentos, pela amizade e companheirismo.

Aos técnicos de laboratório, **Ildo, Buiate e Otávio**, pela atenção, pela amizade e por terem me auxiliado durante este período.

À **Carolina** e ao **Luis Ricardo**, secretários do Comitê de Ética, por toda atenção e paciência que tiveram comigo durante este período.

Aos meus amigos, **Helieder, Naiara, Sandra, Natália, Renata, Eva Taísa, Sâmela e Camila**, que sempre me deram forças e me estenderam a mão amiga quando eu mais precisava, pelos momentos de alegria e também de descontração.

À **Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES** pelo incentivo financeiro para realização deste projeto.

À **Pró-Reitoria de Pós-Graduação e Pesquisa – PROPP**, pelo custeio dos exames de mineralogramas do sangue e do cabelo efetuados pela empresa BioMinerais.

À enfermeira **Ana Beatriz** que gentilmente coletou as amostras de sangue de cada paciente que foi recrutado.

Aos membros do CAPs – **Centro de Apoio Psicossocial de Alcoolistas e Drogados**, e aos membros do **Setor de Ortopedia do Hospital das Clínicas**, pela total atenção e apoio despendido para o desenvolvimento do projeto, durante o recrutamento dos pacientes.

Aos **pacientes (sujeitos de pesquisa)** e **acompanhantes**, pela atenção, confiança e cooperação despendida, 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.

*“Ainda que a figueira não brote  
e não haja fruto na parreira;  
ainda que a oliveira negue seu fruto  
e o campo não produza colheita;  
ainda que as ovelhas desapareçam do curral  
e não haja gado nos estábulos;  
eu me alegrarei em Javé e exultarei  
em Deus, meu salvador.  
Meu Senhor Javé é a minha força,  
Ele me dá pés de gazela  
e me faz caminhar pelas alturas”.*

***Habacuc 3, 17-19***

<b>LISTA DE FIGURAS.....</b>	<b>vii</b>
<b>LISTA DE TABELAS.....</b>	<b>viii</b>
<b>LISTA DE ABREVIATURAS.....</b>	<b>ix</b>
<b>RESUMO.....</b>	<b>xi</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>xii</b>
<b>1.0 INTRODUÇÃO.....</b>	<b>13</b>
<b>2.0 REVISÃO DE LITERATURA.....</b>	<b>14</b>
<b>2.1.0 Os minerais na saúde.....</b>	<b>14</b>
2.1.1 Zinco.....	14
2.1.2 Cobre.....	16
2.1.3 Magnésio.....	17
2.1.4 Manganês.....	18
2.1.5 Ferro.....	21
2.1.6 Selênio.....	21
2.1.7 Cálcio.....	22
2.1.8 Fósforo.....	22
2.1.9 Vanádio.....	23
<b>2.2.0 Metais e estresse oxidativo.....</b>	<b>23</b>
<b>2.3.0 Materiais biológicos.....</b>	<b>25</b>
2.3.1 Sangue.....	25
2.3.2 Plasma e soro – diferença.....	25
2.3.3 Cabelo.....	26
<b>2.4 Cachaça.....</b>	<b>27</b>

2.5	Metabolismo do álcool.....	28
2.6	Lesões hepáticas.....	30
2.7	Alcoolismo e nutrição.....	30
2.8	Determinação de fósforo.....	31
3.0	OBJETIVOS.....	32
3.1	Objetivo geral.....	32
3.2	Objetivos específicos.....	32
4.0	CASUÍSTICAS E MÉTODOS.....	32
4.1	Aprovação do trabalho e recrutamento dos sujeitos de pesquisa...	32
4.2	Reagentes e soluções padrão.....	33
4.3	Coleta e abertura de amostra biológica.....	33
4.3.1	Sangue.....	33
4.3.2	Pelos púbicos.....	34
4.4	Preparo das soluções.....	35
4.5	Leitura das amostras.....	36
4.6	Análises estatísticas.....	36
5.0	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	37
6.0	CONCLUSÃO.....	48
7.0	TRABALHOS FUTUROS.....	49
8.0	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	50
9.0	ANEXOS.....	59



## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1:</b> Mecanismos de transporte do manganês através da barreira hematoencefálica em condições fisiológicas.....	20
<b>Figura 2:</b> Perpetuação da formação de radicais hidroxilas pela reação de Fenton na presença de excesso de superóxido.....	25
<b>Figura 3:</b> Equema de um corte do couro cabeludo.....	26
<b>Figura 4:</b> Metabolismo do álcool.....	29
<b>Figura 5:</b> Curva de calibração do fósforo obtida no espectrofotômetro UV-Vis.....	37
<b>Figura 6:</b> Curva de calibração do Zinco.....	38
<b>Figura 7:</b> Curva de calibração do Cobre.....	38
<b>Figura 8:</b> Curva de calibração do Ferro.....	39
<b>Figura 9:</b> Curva de calibração do Magnésio.....	39
<b>Figura 10:</b> Média da razão de [Zn]/[Cu] existente nos pelos púbicos.....	42
<b>Figura 11:</b> Média da concentração de ferro no cabelo humano.....	46

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1:</b> Etapas para a digestão do sangue no Microondas DGT.....	34
<b>Tabela 2:</b> Etapas para a digestão do cabelo no Microondas DGT.....	35
<b>Tabela 3:</b> Mineralograma dos pelos púbicos em $\text{mg.L}^{-1}$ .....	40
<b>Tabela 4:</b> Média das concentrações dos minerais presentes nos pelos púbicos dos pacientes.....	41
<b>Tabela 5:</b> Concentrações mínima e máxima em $\text{mg.L}^{-1}$ dos diferentes minerais presentes nos pelos púbicos (BioMinerais).....	42
<b>Tabela 6:</b> concentração de minerais em $\text{mg.L}^{-1}$ no sangue humano realizado no laboratório da UFU.....	43
<b>Tabela 7:</b> Média das concentrações em $\text{mg.L}^{-1}$ dos minerais quantificados nos sangue dos pacientes.....	43
<b>Tabela 8:</b> Mineralograma do sangue em $\text{mg.L}^{-1}$ realizadas no Espectrômetro de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado.....	44
<b>Tabela 9:</b> Média das concentrações em $\text{mg.L}^{-1}$ dos minerais quantificados nos sangue dos pacientes.....	45
<b>Tabela 10:</b> Perfil dos sujeitos de pesquisa.....	47

## LISTA DE ABREVIÇÕES

AAS	Espectrometria de absorção atômica
Abs	Absorbância
ATP	Adenosina Trifosfato
b	Caminho óptico
c	Concentração da substância
Ca	Cálcio
Cr	Cromo
Cu	Cobre
DMT-1	Transportador divalente de metal-1
DNA	Ácido desoxirribonucleico
e <sup>-</sup>	Elétron
$\epsilon$	Coeficiente de extinção molar
Fe	Ferro
Fr	Ferritina
Hb	Hemoglobina
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Peróxido de hidrogênio
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	Ácido sulfúrico
HCl	Ácido clorídrico
HClO <sub>4</sub>	Ácido perclórico
HF	Ácido fluorídrico
HNO <sub>3</sub>	Ácido nítrico
ICP-OES	Espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado
K	Potássio
$\mu$ L	Microlitro
Mg	Magnésio
min	Minuto
mL	Mililitro
Mn	Manganês
NAD	Nicotinamida Adenina Dinucleotídeo
NADH	Nicotinamida Adenina Dinucleotídeo na sua forma reduzida
P	Fósforo

ppb	Parte por bilhão
ppm	Parte por milhão
ROS	Espécies reativas de oxigênio
RNA	Ácido ribonucleico
S	Enxofre
Se	Selênio
SN	Sistema Nervoso
SNC	Sistema Nervoso Central
SOD	Superóxido dismutase
Tf	Transferrina
TfR	Transportador de transferrina
tRNA	RNA transportador
UV	Ultravioleta
V	Vanádio
Vis	Visível
W	Watt
Zn	Zinco

## RESUMO

Essa pesquisa foi analisada pelo Comitê de Ética com Pesquisa com Seres Humanos na Universidade Federal de Uberlândia e recebeu o registro CEP/UFU N° 241/10; o parecer de aprovação recebeu o número 410/10. Foram recrutados 30 sujeitos de pesquisa, todos do sexo masculino, divididos em dois grupos de 15 pessoas. O primeiro grupo, denominado de grupo A, era formado por 15 pacientes alcoolistas, sendo não portadores de cirrose hepática, apresentando uma idade média de 46 anos. O segundo grupo, denominado de grupo controle (grupo C), era formado por pacientes não etilistas, apresentando uma idade média de 47 anos. De cada pessoa foram coletados 10 mL de sangue e 0,5g de pelos púbicos. O sangue foi digerido em forno de microondas, em meio ácido, no Instituto de Química da UFU. Após a digestão, uma parte do sangue digerido foi analisado no Instituto de Química e a outra parte deste material, juntamente com os pelos púbicos, foram encaminhados para a empresa BioMinerais – SP, para se fazer o mineralograma do sangue e dos pelos púbicos. Para os mineralogramas na BioMinerais, a quantificação de cada mineral foi efetuada no Espectrômetro de Emissão Óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP-OES); no Instituto de Química, utilizou-se a técnica de Espectroscopia de Absorção Atômica por chama. A partir dos dados obtidos, foi possível perceber que houve um aumento significativo das concentrações de ferro, manganês e cobre nos pelos púbicos dos pacientes alcoolistas quando comparados com o grupo controle. As concentrações médias dos metais obtidas da quantificação dos minerais presentes nos pelos púbicos do grupo A foram:  $[Fe] = 83,8 \text{ mg.L}^{-1}$ ;  $[Mn] = 2,894 \text{ mg.L}^{-1}$ ;  $[Na] = 1041,13 \text{ mg.L}^{-1}$ ;  $[V] = 0,28 \text{ mg.L}^{-1}$  e  $[Cu] = 9,6 \text{ } \mu\text{g.L}^{-1}$ ; ao passo que a concentração dos metais quantificados na mesma matriz do grupo C foram:  $[Fe] = 31,2 \text{ mg.L}^{-1}$ ;  $[Mn] = 1,066 \text{ mg.L}^{-1}$ ;  $[Na] = 399,67 \text{ mg.L}^{-1}$ ;  $[V] = 0,09 \text{ mg.L}^{-1}$  e  $[Cu] = 4,47 \text{ } \mu\text{g.L}^{-1}$ . Estes dados evidenciam que a ingestão da cachaça contaminada com o cobre e, o próprio metabolismo do álcool, estão comprometendo o balanço destes minerais no organismo dos pacientes.

Palavras chaves: cachaça, análise de cabelo, cobre.

## ABSTRACT

This research was analyzed by the Ethics in Human Research at the Federal University of Uberlândia and received registration CEP / UFU No 241/10, the opinion received approval number 410/10. Were recruited 30 subjects, all male, were divided into two groups of 15 people. The first group, called Group A consisted of 15 alcoholic patients, and not suffering from liver cirrhosis, with a mean age of 46 years. The second group, called the control group (group C) consisted of non-alcoholic patients, with a mean age of 47 years. Each person was collected 10 ml of blood and 0.5 g of pubic hair. The blood was digested in a microwave oven in an acid medium, the Institute of Chemistry of the UFU. After digestion, a part of the blood digest was analyzed at the Institute of Chemistry and another part of this material, together with pubic hair, were sent to the company biominerals - SP, to make the hair analysis of blood and pubic hair. For mineralogramas in biominerals, the quantification of each mineral was carried out in Optical Emission Spectrometer with inductively plasma coupled, Institute of Chemistry, we used the technique of atomic absorption spectroscopy with flame. From the data obtained, it was revealed that there was a significant increase in concentrations of iron, manganese and copper in the pubic hair of alcoholics when compared with the control group. The average concentrations of metals obtained from the quantification of minerals in the pubic hair of Group A were:  $[\text{Fe}] = 83,8 \text{ mg.L}^{-1}$ ,  $[\text{Mn}] = 2,894 \text{ mg.L}^{-1}$ ,  $[\text{Na}] = 1041,13 \text{ mg.L}^{-1}$ ,  $[\text{V}] = 0,28 \text{ mg. L}^{-1}$  and  $[\text{Cu}] = 9,6 \text{ }\mu\text{g.L}^{-1}$ , whereas the concentration of metals quantified in the same matrix of group C:  $[\text{Fe}] = 31,2 \text{ mg.L}^{-1}$ ,  $[\text{Mn}] = 1,066 \text{ mg.L}^{-1}$ ,  $[\text{Na}] = 399,67 \text{ mg.L}^{-1}$ ,  $[\text{V}] = 0,09 \text{ mg.L}^{-1}$  and  $[\text{Cu}] = 4,47 \text{ }\mu\text{g.L}^{-1}$ . These data show that intake of liquor contaminated with copper and the own metabolism of alcohol, are affecting the balance of these minerals in the body of patients.

Keywords: rum, hair analysis, cooper.

## 1. INTRODUÇÃO

O organismo humano depende de várias reações químicas para o funcionamento correto de nossas células. Alguns dos constituintes elementares da composição sanguínea, como os elementos Cu, Zn, Fe, P, Ca, Mg, Mn, K são imprescindíveis para essas reações e, conseqüentemente, para um bom estado de saúde e à vida. Pode-se mencionar como exemplo, o cálcio e o magnésio, que atuam na formação de ossos, dentes e tecidos (FRANCO, 1998).

Estudos sobre biodisponibilidade mostra que o metabolismo dos minerais não pode ser considerado de maneira isolada. Fatores fisiológicos e nutricionais podem interferir na absorção, no transporte e no armazenamento, com subsequente aumento da suscetibilidade à deficiência ou toxicidade (BREMNER, 1995).

Um dos fatores que interferem na biodisponibilidade dos minerais diz respeito às interações que ocorrem entre os mesmos (BREMNER, 1995; COZZOLINO, 1997). De acordo com Couzi *et al.* (1993), as interações entre minerais podem ocorrer de forma direta ou indireta. As interações diretas são geralmente fenômenos competitivos que ocorrem durante a absorção intestinal ou utilização tecidual, enquanto que as indiretas ocorrem quando um mineral está envolvido no metabolismo do outro, de modo que a deficiência de um acarreta num prejuízo da função do outro. Desta forma, para o bom funcionamento do organismo, as concentrações dos minerais devem estar nas concentrações adequadas, visto que os mesmos são cofatores de várias enzimas que atuam no metabolismo (COUZI *et al.* 1993).

Por outro lado, as bebidas alcoólicas têm sido utilizadas pelo homem com várias finalidades como diminuir a ansiedade e promover maior contato social, pois a substância ativa das bebidas alcoólicas, o etanol, produz inicialmente um estado de euforia e desinibição, seguido de um efeito depressivo sobre o sistema nervoso (RAMG *et al.*, 1995).

O álcool etílico ou etanol é um composto orgânico obtido através da fermentação de substâncias amiláceas, que contêm açúcares como a sacarose, presente na cana-de-açúcar. O álcool é uma substância psicoativa, que está presente nas bebidas alcoólicas (PHILIPPI, 2003), e assim sendo, o seu uso inadequado pode trazer graves conseqüências tanto em nível orgânico, como psicológico e social, caracterizando a condição conhecida como alcoolismo, hoje conhecida como Síndrome de Dependência do Álcool (RAMOS & BERTOLE, 1990).

A cachaça é uma denominação típica e exclusiva da aguardente de cana-de-açúcar produzida no Brasil (BRASIL, 2003) e, durante o seu processo de fabricação, ela é destilada e armazenada em torneis de cobre. Neste processo, forma-se um composto insolúvel de cobre, no qual o mesmo é solubilizado na cachaça devido os vapores ácidos da destilação, contaminando assim o produto (BOZA e HORII, 2000).

Desta forma, o indivíduo que ingere cachaça contaminada com o cobre ao longo da sua vida, este mineral vai se acumulando no organismo. O cobre é benéfico em concentrações adequadas, pois participa de inúmeras reações metabólicas (GAETKE e CHOW, 2003); já em excesso, pode ser prejudicial à saúde humana, uma vez que este metal está associado com doenças neurodegenerativas (WAGGONER *et al*, 1999).

Neste sentido, o presente trabalho buscou estudar e comparar os mineralogramas de pessoas alcoolistas e não alcoolistas a partir da quantificação dos minerais presentes nos materiais biológicos como o sangue e pelos púbicos. Este último foi escolhido por ser uma das rotas de excreção do organismo humano e por ser um material de fácil coleta.

## **2. REVISÃO DE LITERATURA**

### **2.1.0. Alguns dos minerais importantes na saúde**

#### **2.1.1. Zinco**

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, sendo em maiores porcentagens no músculo, fígado, rins, ossos e próstata (FRANSSINETTI *et al*, 2006).

Os alimentos constituem uma fonte primária de zinco para os humanos, e somente uma pequena parte é proveniente da água. Os teores de zinco são variáveis, porém, as carnes, peixes, ovos, fígado, mariscos, leite e derivados são considerados boas fontes deste mineral, devido à presença de certos aminoácidos que ajudam a aumentar a solubilidade, dentre eles a cisteína, a histidina e a metionina (FRANSSINETTI *et al*, 2006). Alguns fatores dietéticos, intralumiais e sistêmicos influenciam na captação e transporte deste mineral, tais como: a forma química deste elemento, interação mineral-mineral, taninos, oxalatos, fitatos, fármacos, catabolismo, hormônios, proteínas da dieta e estresse (LÖNNERDAL, 2000). As interações biológicas existentes entre minerais



quimicamente similares, como ferro, cálcio e o cobre, pode ser um dos fatores que pode afetar a absorção de cada um deles (KING e KEEN, 1999).

Van Soest (1994) comenta o possível aumento da indisponibilidade do zinco por altas quantidades de fitato no alimento. O autor cita que tal fato pode ser causa da deficiência de Zn em não-ruminantes, pois o fitato se liga ao mineral, tornando-o indisponível, o que provavelmente não ocorreria em ruminantes liberando o zinco para absorção.

O fitato (ácido fítico) é a principal forma de estocagem de fósforo nas plantas, sendo encontrado em cereais e leguminosas. Na forma de hexafosfato de inositol, a forma mais encontrada nos alimentos, possui em sua estrutura seis íons fosfatos ligados aos carbonos da molécula que, por serem altamente eletronegativos no pH do lúmen intestinal, formam complexos insolúveis com o Zn, que precipitam e, por não haver quantidades suficientes da enzima fitase, acabam sendo excretados nas fezes (LÖNNERDAL, 2000).

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 do zinco no organismo (KING *et al*, 2000).

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. Esta proteína apresenta baixo peso molecular e alto conteúdo de cisteína, desempenhando um papel importante na desintoxicação de metais tóxicos, na homeostase do cobre e na remoção de radicais livres (KREBS, 2000).

As funções bioquímicas do zinco podem ser refletidas pelo seu papel catalítico, estrutural e regulatório em muitas proteínas, enzimas, hormônios e receptores de hormônios. Este mineral está envolvido na atividade de enzimas que controlam a síntese de ácidos nucléicos, crescimento e desenvolvimento normais, reprodução, desenvolvimento fetal, estabilidade da estrutura molecular dos constituintes subcelulares e de membrana, formação de ossos e cicatrização (STEFANIDOU *et al*,

2006). O zinco ainda regula processos de transcrição e transdução de polinucleotídeos e, conseqüentemente, a expressão gênica (WOOD, 2000). A deficiência de zinco ocasiona primeiramente uma mobilização das reservas funcionais e, com a deficiência prolongada, pode ocorrer anorexia pelo aumento dos níveis de norepinefrina e alterações no hipotálamo, retardo no crescimento e defeito no crescimento fetal, cicatrização lenta, intolerância à glicose pela diminuição de produção de insulina, hipogonadismo, impotência sexual e atrofia testicular, atraso na maturação sexual e esquelética, restrição da utilização de vitamina A, fragilidade osmótica dos eritrócitos, disfunções imunológicas, ocorrendo infecções intercorrentes, hipogeusia (o Zn é componente da gustina, uma proteína envolvida com o paladar), desordens de comportamento, aprendizado e memória, diarreia, dermatite e alopecia (PRASAD, 1996).

### **2.1.2. Cobre**

O cobre é o componente de grande número de proteínas e enzimas que desempenham funções biológicas fundamentais às células e que contribuem para a manutenção de sua homeostase (GAETKE e CHOW, 2003), como, por exemplo, a superóxido dismutase (MORO, 2007), a lisil oxidase, a citocromo c oxidase e a ceruloplasmina (SQUITTI, 2008).

A maior parte do cobre absorvido é mobilizada para fígado e incorporado à ceruloplasmina; só uma pequena parte é transportada para o rim. Ainda não está estabelecida a forma de captação do cobre no rim. Provavelmente, a filtração ocorre pelo glomérulo e a reabsorção pelos túbulos renais. Quando a sua ingestão é elevada, o cobre hepático pode ser incorporado à metalotioneína, proteína considerada como um agente importante de desintoxicação em humanos e ratos (SUZUKI *et al.*, 2002).

As células hepáticas possuem um sistema bem integrado no controle da adequação da quantidade de cobre intracelular. O cobre, primeiramente, é transportado para dentro das células ligado a uma ou mais proteínas transmembrana. No citoplasma, o cobre liga-se a um grupo de proteínas receptoras (metalochaperonas) que direcionam e transferem o cobre para as estruturas celulares contendo as diversas apocuproproteínas, substâncias sem a incorporação de cobre (GAETKE E CHOW, 2003).

No que se refere à toxicidade do cobre durante o envelhecimento, há a hipótese de correlação positiva entre cobre livre com comprometimento cognitivo leve e doença de

Alzheimer, respectivamente (BREWER, 2010). Vale ressaltar que, nos últimos anos, a doença de Alzheimer tem se tornado muito mais incidente, principalmente em países desenvolvidos onde se utilizam encanamentos de cobre (BREWER, 2009). Outros estudos em humanos, porém, avaliando o cobre proveniente de suplementos alimentares, também associam a concentração de cobre livre à diminuição da capacidade cognitiva (MORRIS, 2006).

O cobre é um mineral essencial para seres vivos, mas é, também, potencialmente tóxico às células pela facilidade de sofrer mudanças no estado de oxidação na forma de íon livre. Desta forma, para que as metaloproteínas cobre-dependentes desempenhem suas funções essenciais de forma satisfatória, tal como a de antioxidante, o íon cobre precisa estar adequadamente compartimentalizado e presente em concentrações adequadas intra e extracelulares. Tanto a deficiência quanto o excesso desse mineral podem trazer prejuízos à integridade e funcionalidade celular (FABISIAK *et al*, 1999).

### **2.1.3. Magnésio**

O magnésio é o quarto cátion mais abundante do organismo e o segundo componente mais abundante do meio intracelular, ficando atrás apenas do potássio em termos de concentração celular. Ele é um importante íon, pois regula diversas reações e atua como cofator enzimático de muitas reações metabólicas essenciais (WELLS, 2008).

Ele é necessário em reações redox, principalmente as reações envolvidas no metabolismo energético, especificamente as que transferem fosfato quando o Mg é indispensável para a ativação enzimática, e como parte de algumas enzimas, como, por exemplo, a enolase, envolvida no metabolismo de carboidratos ( NELSON, 2008).

Este mineral se encontra amplamente distribuído no organismo, existindo em uma pessoa adulta de, aproximadamente, 21 a 28g, dos quais a metade encontra-se no músculo e no tecido liso e um pouco mais da metade nos ossos, ficando apenas 1% presente no sangue (MA *et al*, 1995; SARIS *et al*, 2000).

Segundo Saris *et al.* (2000), a absorção de magnésio ocorre ao longo do trato intestinal, principalmente no íleo. A fração de absorção deste mineral, tanto por adulto quanto por crianças saudáveis, é influenciada pela concentração dietética e pela presença de componentes inibidores ou promotores na dieta. Dentre os inibidores citam-se fibras, fitatos, oxalatos, potássio e zinco, em altas concentrações, e proteínas em concentrações

menores do que 30 g/d. Entre os promotores estão a lactose e os carboidratos, que estimulam a fermentação bacteriana intestinal (SWAMINATHAN, 2003).

O rim é o principal órgão envolvido na homeostasia deste mineral. Diante da baixa ingestão oral deste micronutriente, os rins são capazes de reduzir a excreção diária do mesmo (VALK, 1999).

Normalmente, a deficiência de magnésio é decorrente de distúrbios na absorção intestinal e/ou no aumento da excreção renal, além de outros fatores como o alcoolismo (TONG e RUDE, 2005).

Os sintomas causados pela deficiência deste mineral são: náusea, vômito, fraqueza, letargia, tremores. Na deficiência grave de Mg: câibras musculares, ataxia, nistagmos, mudanças de humor, ansiedade, nervosismo, períodos de redução de atenção, confusão mental, apatia, depressão, alucinações, delírio e eventos psicóticos (SARIS *et al.*, 2000).

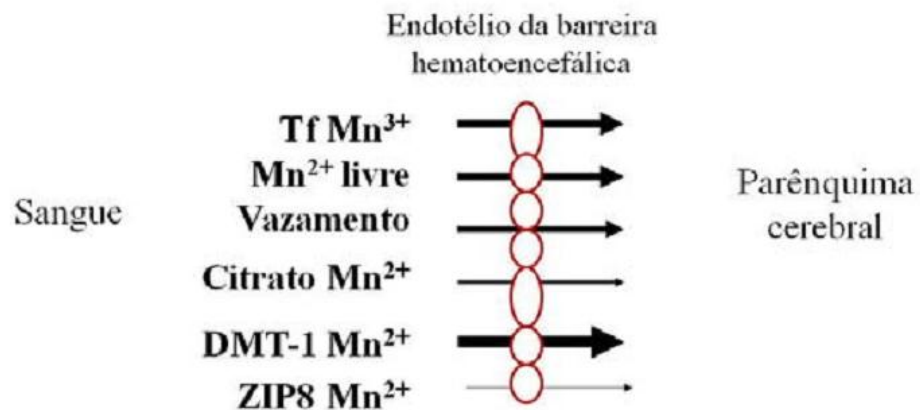
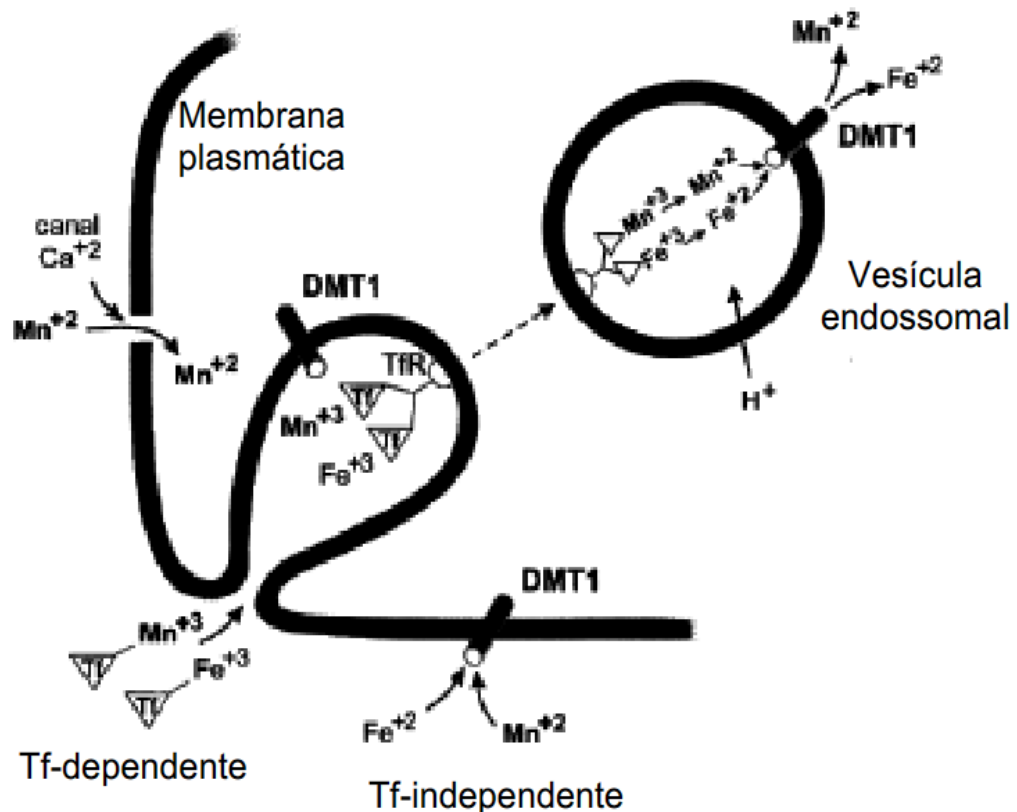
#### **2.1.4. Manganês**

O manganês é um metal essencial envolvido no funcionamento de diversas enzimas, sendo necessário para vários processos fisiológicos, como modulação do sistema imune e metabolismos de proteínas e carboidratos (TAKEDA, 2003; BENEDETTO *et al.*, 2009). Porém, exposição a elevadas doses do metal por períodos prolongados pode causar uma síndrome neurológica denominada manganismo, que se assemelha ao Parkinson. O Parkinsonismo é um termo que define pacientes que apresentam tremores, rigidez e sintomas de disfunção dos gânglios da base. Existem diversas causas para síndromes parkinsonianas: doenças neurodegenerativas, drogas, lesões estruturais, doenças cerebrovasculares, infecções e agentes tóxicos (CERSOSIMO e KOLLER, 2006). A maior parte do  $Mn^{2+}$  necessário é obtida pela dieta, estando o metal presente em grãos, chás e vegetais com folhas verdes. Porém a toxicidade pela forma oral de exposição é rara devido ao balanço regulado pelos enterócitos (entrada) e células dos ductos biliares (excreção) (DOBSON, ERIKSON e ASCHNER, 2004). Já a exposição por via olfatória pode levar ao acúmulo do  $Mn^{2+}$ , via bulbo olfatório, em regiões específicas do SNC, como estriado, além de causar inflamação do epitélio nasal (BENEDETTO *et al.*, 2009). O aumento dos biomarcadores de  $Mn^{2+}$  em seres humanos, como a concentração de  $Mn^{2+}$  no cabelo, tem sido associado com deficiência de aprendizagem, hiperatividade e déficit de atenção

(MOLINA *et al.*, 2011). Os cérebros neonatais ou em desenvolvimento são mais suscetíveis à toxicidade do  $Mn^{2+}$ . A absorção do metal no intestino é geralmente elevada na primeira semana de vida, seguido por uma diminuição constante com a idade. Esses fatores contribuem para o risco consideravelmente maior de neurotoxicidade para recém-nascidos, quando expostos ao excesso de  $Mn^{2+}$ , porém, os efeitos moleculares e comportamentais do  $Mn^{2+}$  durante o desenvolvimento precoce não estão totalmente caracterizados (MOLINA *et al.*, 2011).

A manutenção da homeostase do  $Mn^{2+}$  é indispensável para qualquer organismo. Por se tratar de um metal essencial para o funcionamento de enzimas que atuam no SNC, dentre elas, a superóxido dismutase mitocondrial (Mn-SOD, uma conhecida metaloproteína), a glutamina sintetase (presente em células gliais), a piruvato carboxilase, descarboxilases, hidrolases, e liases, o  $Mn^{2+}$  possui mecanismos de transporte específico (TAKEDA, 2003; DOBSON, ERIKSON e ASCHNER, 2004). Este mineral pode ter acesso ao cérebro a partir da corrente sanguínea por meio da barreira hematoencefálica ou do líquido cefalorraquidiano. Vários mecanismos envolvidos no transporte deste metal através da barreira hematoencefálica foram identificados, entre eles: difusão facilitada, transporte ativo, transportador de metal divalente 1, transportador de  $Zn^{2+}$ , membro da família dos transportadores de íons divalentes e transporte dependente de transferrina (Tf) (Figura 1A) (ASCHNER *et al.*, 2007).

O transporte do  $Mn^{2+}$  para o interior de neurônios ou células gliais ocorre de maneira semelhante ao transporte do ferro. O  $Mn^{2+}$  pode ser conjugado à Tf, quando na forma  $Mn^{3+}$  e então ser transportado para o interior de neurônios ou células gliais por mecanismo dependente de transportador de transferrina (TfR) (Figura 1B). Neste caso, o Mn conjugado à Tf, se liga a TfR presentes na superfície celular. Após sofrer endocitose, ainda na vesícula endossomal, o  $Mn^{3+}$  é liberado do complexo Tf-TfR, reduzido a sua forma divalente, e, posteriormente, transportado através da membrana endossomal para o citoplasma celular por meio de transportadores do tipo DMT-1 (transportador de metal divalente-1). Além deste mecanismo, o transporte de  $Mn^{2+}$  também pode ocorrer de uma forma independente de Tf através de DMT-1 (Figura 1B). Em células despolarizadas, foi também demonstrado um mecanismo de transporte de  $Mn^{2+}$ , mediado por canais de cálcio ( $Ca^{2+}$ ), competindo assim com o  $Ca^{2+}$  (ROTH *et al.*, 2002).

**A****TRANSPORTE DE MANGANÊS NO SISTEMA NERVOSO CENTRAL****B**

**Figura 1 : Mecanismos de transporte do manganês através da barreira hematoencefálica em condições fisiológicas. (A) Os transportadores associados com o transporte do metal, dependendo do seu estado de oxidação, estão indicados na figura. A espessura das setas representa a importância relativa de cada tipo de transporte neste processo (ASCHNER *et al.*, 2007). (B) Transporte do manganês ao interior de células PC12. Este ocorre de forma semelhante ao ferro e pode ser dependente ou não de transferrina (Tf). O transportador de metais divalentes (DMT-1) também é importante para este processo (ROTH *et al.*, 2002).**

### 2.1.5. Ferro

O ferro é um mineral vital para a homeostase celular. É essencial para o transporte de oxigênio, para a síntese de DNA e metabolismo energético. É um cofator importante para enzimas da cadeia respiratória mitocondrial e na fixação do nitrogênio. Nos mamíferos é utilizado principalmente na síntese da hemoglobina (Hb) nos eritroblastos, da mioglobina nos músculos e dos citocromos no fígado. Um indivíduo adulto tem no seu organismo de 4 a 5 g de ferro, sendo que cerca de 2,5 g está na forma de Hb. A deficiência de ferro acarretará consequências para todo o organismo, sendo a anemia a manifestação mais relevante. Por outro lado, o acúmulo ou excesso de ferro é extremamente nocivo para os tecidos, uma vez que o ferro livre promove a síntese de espécies reativas de oxigênio que são tóxicas e lesam proteínas, lípidos e DNA (BEAUMONT *et al.*, 2006).

A absorção do ferro ocorre no duodeno, preferencialmente a partir do ferro reduzido. A quantidade de ferro absorvida é regulada conforme as necessidades do organismo através de mudanças na expressão do transportador divalente de metal 1 (DMT-1), envolvido na captação de ferro da luz intestinal através das microvilosidades, e de ferroportina (transportador de ferro que controla a saída de ferro da célula para o plasma, conforme a concentração de ferro nos enterócitos vilosos das criptas intestinais (LEE *et al.*, 2006).

As proteínas que efetuam o transporte do ferro no organismo são três: a transferrina (Tf), o receptor de transferrina (TfR) e a ferritina (Fr). A Tf conduz ferro para os tecidos que possuem TfR. A maior parte dos íons férricos ligados à Tf provém da degradação da hemoglobina de eritrócitos velhos; este processo é realizado pelos macrófagos do sistema reticulo-endotelial (baço, fígado, medula óssea) e proporciona uma reciclagem do ferro (HOFFBRAND *et al.*, 2001).

### 2.1.6 Selênio

O selênio é um mineral muito importante para a saúde humana, sendo necessário para o crescimento normal, para a fertilidade e prevenção de muitas doenças, como câncer, cardiopatias e diabetes de mellitus (RAVN-HAREN, 2008).

É um nutriente essencial intimamente relacionado às complexas funções enzimáticas e metabólicas. Ele faz parte da enzima glutathiona peroxidase, que catalisa a oxidação da glutathiona reduzida para a oxidada. A glutathiona reduzida protege os lipídios das

membranas e outros constituintes celulares contra a lesão oxidativa através do desdobramento do peróxido de hidrogênio e dos hidroperóxidos dos ácidos graxos. O selênio está envolvido em inúmeros processos biológicos importantes: mecanismos imunes, biossíntese da ubiquinona e biossíntese mitocondrial do ATP (MAHAM e ESCOTT-STUMP, 1998).

Além da glutathione peroxidase, os tecidos animais contêm ainda selênio que está incorporado nas proteínas, provavelmente como análogos de selênio dos aminoácidos que contêm enxofre. Estão amplamente distribuídos no organismo animal, sendo encontrado em concentrações elevadas no córtex renal, pâncreas, hipófise e fígado. Encontra-se, principalmente, na castanha-do-pará. Seu papel na distribuição do hidroperóxido, através da glutathione peroxidase, serve para esclarecer a relação entre vitamina E e cisteína como precursores da glutathione (RAVN-HAREN, 2008).

#### **2.1.7. Cálcio**

O cálcio é um nutriente essencial necessário em funções biológicas como a contração muscular, mitose, coagulação sanguínea, transmissão do impulso nervoso ou sináptico e o suporte estrutural do esqueleto. O organismo do homem adulto contém aproximadamente 1000g de cálcio, dos quais 99% estão localizados no osso, formando cristais de hidroxiapatita (FAVUS e GOLTZMAN, 2008). Esses cristais têm papel crucial nas propriedades mecânicas do suporte do peso do esqueleto, servindo também, como uma fonte pronta de cálcio e para manter o mineral ionizado, dentro dos níveis normais. O restante de cálcio se encontra no plasma, no líquido extracelular e nos próprios tecidos, predominantemente em vesículas de armazenamento dentro das células (FAVUS e GOLTZMAN, 2008).

Muitos estudos têm demonstrado que o consumo de cálcio previne doenças como a osteoporose, hipertensão arterial, obesidade e câncer de cólon (HEANEY, 2006).

#### **2.1.8. Fósforo**

O fósforo é um mineral muito importante para o organismo humano, pois ele tem a função de tamponar sistemas ácidos ou alcalinos, auxiliando na manutenção do pH, no armazenamento temporário de energia proveniente do metabolismo de macronutrientes, na forma de ATP, além de ser responsável pela ativação, por meio da fosforilação de diversas cascatas enzimáticas (COZZOLINO, 2007). Cerca de 60 e 70% do fósforo



ingerido na dieta alimentar é absorvido. A absorção ocorre ao longo de todo o intestino, sendo maior no jejuno, menor no duodeno e mínima no íleo (LOGHMAN-ADHAM, 1993).

### **2.1.9. Vanádio**

O vanádio existe em dois principais estados de oxidação em fluidos biológicos: vanadato (+ 5) e vanadil (+4) que coexistem em equilíbrio e são regulados pela tensão do oxigênio, acidez e presença de agentes redutores como, por exemplo, ascorbato, glutathione e catecolaminas. O vanádio presente no corpo é armazenado nos ossos, rim e fígado. No meio intracelular, ele é capaz de estimular a síntese do glicogênio, músculos esqueléticos e adipócitos, contribuindo assim para o controle da glicemia (YAMAZAKI, 2004).

## **2.2. Metais e estresse oxidativo**

O oxigênio apresenta um papel essencial em nosso organismo, mas também um papel tóxico. Durante a respiração mitocondrial, o oxigênio molecular é reduzido em água pelas células, para a formação de energia, produzindo, concomitantemente, pequenas quantidades de radicais livres (KUMAR, 2006). Através de processos enzimáticos e não enzimáticos que ocorrem normalmente na célula, o oxigênio aceita elétrons livres e se transforma em radicais de oxigênio altamente reativos (ROS) tais como  $\text{OH}^\cdot$  e  $\text{O}_2^{\cdot-}$ . A geração de radicais livres atua fazendo parte do mecanismo de defesa antimicrobiana humana que se destina a destruir microorganismos invasores, células tumorais e outras células alvos de remoção. Por outro lado, podem ser extremamente tóxicos, danificando lipídios, proteínas, DNA e RNA celulares, levando a várias formas de lesão celular. Porém, as células possuem sistemas de defesa (proteínas quelantes de metais, enzimas de defesa, antioxidantes) para prevenir lesões causadas por ROS. Um desequilíbrio entre a taxa de geração e a capacidade de remoção celular de radicais livres causa um estresse oxidativo, que pode ser causa direta de uma patologia ou estar associado a uma forma de perpetuar o dano celular causado por outro processo patológico (MARKS, 2006).

Metais de transição, como ferro, cobre e manganês, podem doar ou aceitar elétrons livres durante reações intracelulares, catalisando a formação de radicais livres,

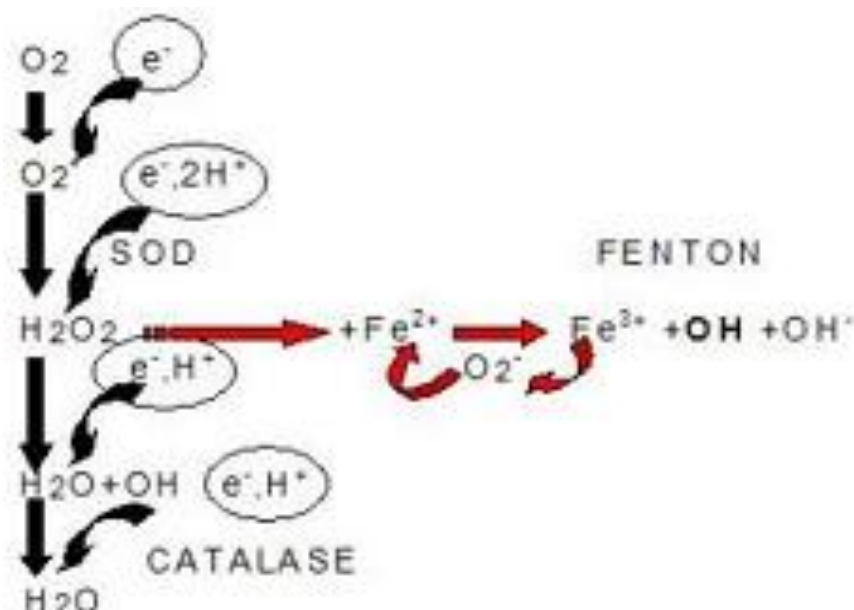
como na reação de Fenton (equação 1). Como a maior parte do ferro intracelular está na forma férrica ( $\text{Fe}^{3+}$ ), ele primeiro precisa ser reduzido para a forma ferrosa ( $\text{Fe}^{2+}$ ) para participar da reação de Fenton (KUMAR, 2006).



No estado metabólico normal, o superóxido  $\text{O}_2^{\cdot-}$  favorece a oxidação de  $\text{Fe}^{2+}$  a  $\text{Fe}^{3+}$ . No entanto, se a concentração intracelular de superóxido é elevada, a reação favorece a redução de  $\text{Fe}^{3+}$  a  $\text{Fe}^{2+}$  perpetuando a reação de Fenton e formando mais radicais hidroxila (CASTELLANI *et al.*, 2007) (Figura 2). Os níveis dos ROS, no entanto, são minimizados pela ligação dos íons a proteínas de armazenamento e de transporte, por exemplo, a transferrina, a ferritina, a lactoferrina e a ceruloplasmina, que agem como quelantes, e, assim, minimizam a formação de  $\cdot\text{OH}$  (KUMAR, 2006).

De todos os órgãos, o cérebro deve ser considerado o mais sensível ao estresse oxidativo devido às seguintes características:

- alto consumo de oxigênio (20% de todo organismo);
- altos níveis de ferro e ascorbato (cruciais para peroxidação lipídica da membrana, por meio da Reação de Fenton);
- níveis relativamente baixos de agentes protetores antioxidantes;
- tendência a acumular metais;
- capacidade da micróglia (macrófagos do SNC) de produzir ROS sob ativação e secretar citocinas inflamatórias;
- altas concentrações de neurotransmissores auto-oxidáveis (dopamina, noradrenalina) que reagem com  $\text{O}_2$  produzindo ROS;
- presença de enzimas (monoamino oxidase, tirosina, etc.) que produzem  $\text{H}_2\text{O}_2$  como produto final de suas atividades; e
- alto tráfego de  $\text{Ca}^{+2}$  através da membrana neuronal, seguindo interferência com transporte de íons, pela ruptura de metabolismo energético (PASSI *et al.*, 2006; SMITH *et al.*, 2007).



**Figura 2 – Perpetuação da formação de radicais hidroxilas pela reação de Fenton na presença de excesso de superóxido (MARKS, 2006).**

## 2.3. Materiais biológicos

### 2.3.1. Sangue

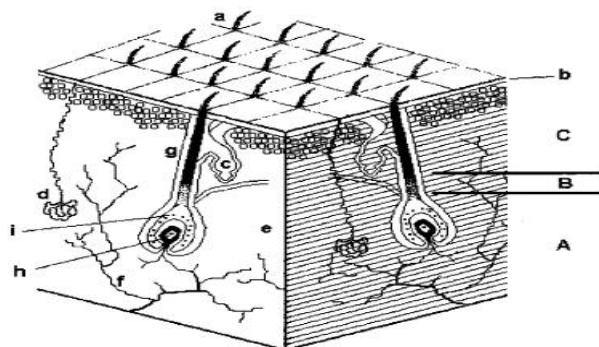
O sangue é basicamente constituído pelo plasma, glóbulos vermelhos (eritrócitos), glóbulos brancos (leucócitos) e plaquetas (trombócitos). Cada componente tem uma função principal e importante para a vida dos seres vivos. O sangue pode ser separado em componentes celular e extracelular por meio da centrifugação. O plasma sanguíneo é um líquido acelular ou extracelular do sangue e a água constitui cerca de 93% de seu volume plasmático (OLIVEIRA et al, 1991).

### 2.3.2. Plasma e soro – diferença

O plasma é o líquido que pode ser retirado do sangue depois de o mesmo ser centrifugado, quando coletados em tubos contendo anticoagulante. No entanto, o soro também é obtido a partir da centrifugação do sangue quando o mesmo foi coletado em tubos que não continham anticoagulante. Então a diferença básica entre plasma e soro consiste no fato de que o primeiro contém além das proteínas do soro, fibrinogênio, fibrina e fatores de coagulação (LEITÃO, 2009).

### 2.3.3. Cabelo

O cabelo humano é um filamento queratinizado que cresce a partir de cavidades em forma de sacos chamados de folículos como é mostrado na figura 2. Estes folículos se estendem desde a derme até a epiderme através do extrato córneo.(ROBBINS, 1994).



**Figura 3: Equema de um corte do couro cabeludo: a) extrato córneo;b) epiderme; c) glândula sebácea; d) glândula e crina; e) derme; f)vasos sanguíneos; g) folículo; h) papila; i) grânulos de melanina; A) zona de diferenciação e síntese biológica; B) zona de queratinizaçãoe C) Região do cabelo permanente (ROBBINS, 1994).**

O cabelo é basicamente composto por três camadas: cutícula (camada externa composta por várias subcamadas separadas por um complexo de células - endocutícula, epicutícula e exocutícula); córtex (principal componente do cabelo, formado por um conjunto de células cilíndricas denominado de matriz, local onde fica situada a queratina e outras proteínas) e medula (camada mais interna do folículo) que, em alguns tipos de cabelo, pode não estar presente). Em intoxicações severas por metais pesados, tais como Tl e Pb, a cutícula pode mostrar-se danificada (BENCZE, 1990).

A análise do nível de metais essenciais, não essenciais e tóxicos no organismo humano em amostra de cabelo é definida comercialmente de mineralograma. Utilizando-se essa técnica capilar podem ser avaliadas variações nas concentrações dos diversos minerais presentes no organismo humano no decorrer do tempo (VIEIRA, 2004).

A análise de cabelo é bastante utilizada em criminalística (na Europa, para identificar criminosos, por meio da análise do DNA e morfologia), toxicologia, meio ambiente, medicina do trabalho (para avaliar a exposição a metais pesados) e nutrição. A concentração de elementos traço no cabelo é utilizada na comunidade paramédica para avaliar distúrbios de aprendizagem, emocionais e nutricionais; na comunidade médica é utilizado para avaliar doenças e distúrbios metabólicos, onde é muito

controvertida a validade no diagnóstico clínico, sendo mais aceita quando utilizada para confirmar alguma hipótese (CHATT e KATZ, 1988).

Wang *et al.* (1995), determinaram a concentração de elementos traço em amostra de cabelo, por espectroscopia de emissão atômica por plasma de argônio induzido (ICP OES), em 14 pacientes com câncer de fígado, 19 pacientes com câncer de estômago, 11 pacientes com câncer de pulmão, 19 pacientes com vários tipos de câncer e 72 controles. As análises estatísticas mostram que há uma diferença significativa na concentração de certos elementos traços em amostras de cabelos de pessoas normais e pacientes com câncer. As concentrações dos minerais Cd, Cu e Zn foram extremamente baixas ao passo que as concentrações de Cr, Se e Ti estavam significativamente elevadas em pacientes com câncer.

## **2.4. Cachaça**

A cachaça é uma denominação típica e exclusiva para aguardente de cana-de-açúcar produzida no Brasil, com graduação alcoólica de 38 a 48% (v/v) (BRASIL, 2005). Hoje, ela é conhecida como pinga, pinguinha, água de cana ou cachaça, sendo um produto consumido por todas as classes sociais, gerando uma demanda de um produto de melhor qualidade (MAIA, 1991).

O processo de produção da cachaça pode ser resumido nas seguintes etapas: preparação da matéria prima (corte da cana-de-açúcar, separação das suas folhagens; transporte e armazenamento), seguido da extração do caldo e sua fermentação. O resultado desta fermentação é levado à destilação em alambique de cobre, a partir do qual se obtém a cachaça. Esta pode ainda ser envelhecida em tonel de madeira para finalmente ser engarrafada, distribuída e comercializada (LIMA NETO e FRANCO, 1994).

A utilização de torneis de cobre no processo de fabricação da cachaça é frequente, já que o produto apresenta uma melhor qualidade sensorial. Existem várias controvérsias sobre o uso desse metal; no entanto, muitos pesquisadores atribuem ao cobre o papel de catalisador durante o processo de destilação da aguardente. Quando a aguardente é fermentada e destilada em recipientes constituídos de outros materiais, como o aço inox, o produto final contém compostos sulfurados, sendo a bebida resultante de baixa qualidade organoléptica. Porém, a presença de cobre na aguardente em elevadas concentrações é indesejável, pois é prejudicial à saúde humana, sendo, portanto, a sua quantificação fundamental. Assim sendo, existe uma regulamentação de

acordo com a legislação nacional que permite a concentração de cobre presente na cachaça de no máximo  $5,0 \text{ mg.L}^{-1}$  (BRASIL, 1974). A contaminação da aguardente ocorre durante o processo de destilação, no qual se forma o “azinhavre” ( $\text{CuCO}_3$  e  $\text{Cu(OH)}_2$ ) nas paredes internas dos alambiques de cobre. Esse composto é dissolvido pelos vapores alcoólicos ácidos, contaminando o destilado (LIMA NETO e FRANCO, 1994). Desta forma, quando o indivíduo ingere a cachaça, com o passar do tempo, acarretará um acúmulo de cobre no organismo.

## 2.5. Metabolismo do álcool

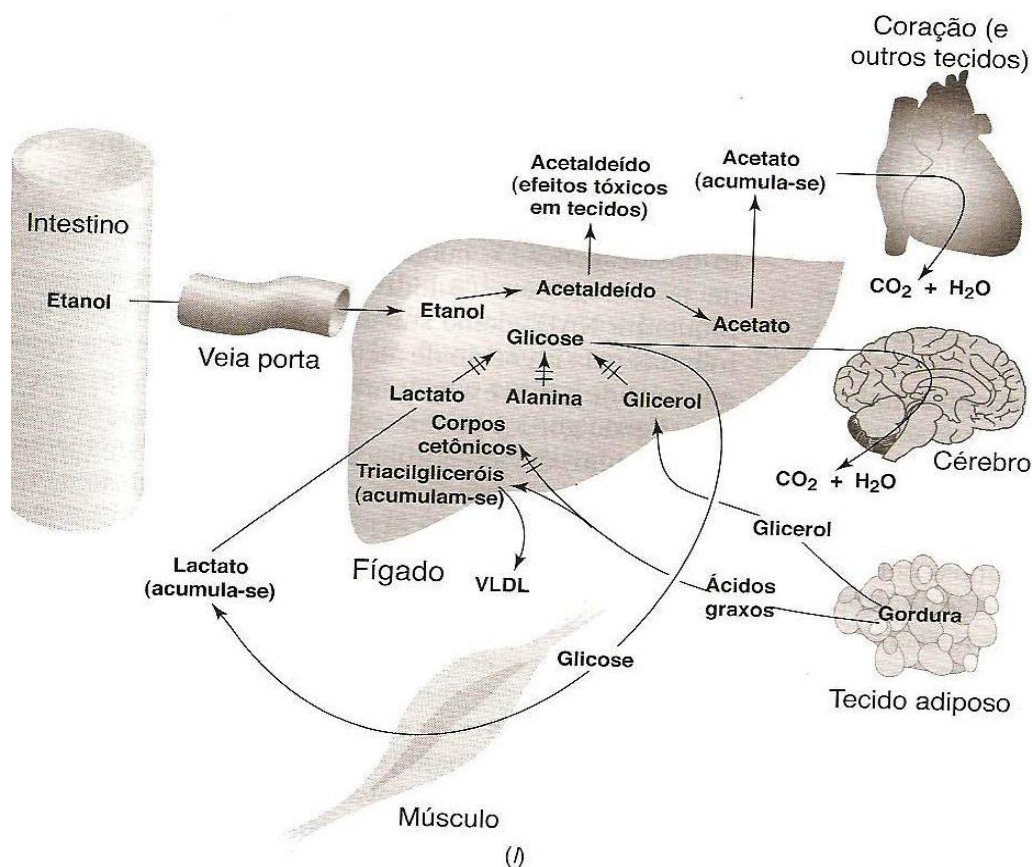
A absorção do álcool etílico se inicia na boca, passa ao longo do esôfago e no estômago, mas é principalmente absorvido no intestino delgado e cólon, por difusão, sem sofrer nenhum processo de digestão (DUTRA-DE-OLIVEIRA e MARCHINI, 2000). Após sua absorção, o etanol é distribuído por toda a água corpórea e com velocidade dependente do grau de vascularização. Nos órgãos com elevado fluxo sanguíneo, como o cérebro, fígado, pulmão e rins, o equilíbrio ocorre mais rapidamente (CRAIG e STITZEL, 1996).

No fígado, a oxidação alcoólica ocorre a partir da ação da enzima álcool-desidrogenase, que converte o etanol em acetaldeído, que por sua vez é oxidado pela enzima aldeído-desidrogenase, em acetato. Este pode difundir-se em parte para o sangue, produzindo acidose metabólica, ou ainda ser ativado no citoplasma da célula, em associação à Co-A, podendo então ser metabolizado a dióxido de carbono e água (CUPPARI, 2002).

No processo de oxidação alcoólica ocorre a produção simultânea de moléculas de NADH (forma reduzida da nicotinamida adenina dinucleotídeo) a partir do NAD (nicotinamida adenina dinucleotídeo), o que provoca uma mudança na relação NADH/NAD, pois ocorre, a partir do consumo de etanol, um acúmulo de NADH. Este fato causa um desequilíbrio metabólico, já que esta relação citada controla a ação de várias enzimas (BERG, TYMOCZKO e STRYER, 2004). Um dos efeitos desse desequilíbrio metabólico é a diminuição da gliconeogênese por impedir a oxidação do lactato a piruvato, ficando o primeiro, acumulado. Isto pode levar a hipoglicemia, já que a produção de glicose sanguínea fica bloqueada e também à acidose láctica (BERG, TYMOCZKO e STRYER, 2004).

O excesso de NADH inibe a oxidação de ácidos graxos, porém o propósito do metabolismo dos ácidos graxos é gerar NADH para a produção de ATP, mas as necessidades de NADH de um alcoolista são proporcionadas pelo metabolismo do etanol; com isso, ocorre síntese de ácidos graxos o que acumula triacilgliceróis no fígado, conduzindo ao “fígado gorduroso” (esteatose hepática). Ou seja, os níveis altos de NADH levam também à substituição da gordura como combustível, e esta então se acumula no fígado, podendo assim causar a esteatose hepática e levar a hiperlipidemia (MAHAN e ARLIN, 1994).

A síntese protéica também é influenciada pelo metabolismo do etanol, causando uma diminuição de albumina e transferrina, que são sintetizadas no fígado, podendo assim causar o edema. Este fato ocorre devido à contribuição das proteínas para a homeostase, mantendo normais as relações osmóticas entre os fluidos do corpo (MAHAN e ARLIN, 1994). Todas as vias metabólicas mencionadas anteriormente estão esquematizadas na figura 4.



**Figura 4: Metabolismo do álcool (MARKS, 2006).**

## **2.6. Lesões hepáticas**

A esteatose é a primeira e a mais freqüente das lesões hepáticas, induzidas pelo etanol, podendo ser a única ou estar associada com outras lesões como hepatite alcoólica, que é caracterizada por grande processo inflamatório e destruição do fígado. A esteatose alcoólica pode evoluir, com a continuação da ingestão etílica, para fibrose e cirrose (MINCIS, 2002).

A cirrose é a fase da doença hepática alcoólica considerada irreversível. Nesta fase, ocorre deformação nas células afetadas, caracterizando-se geralmente por extensiva fibrose hepática e predisposição a carcinoma hepatocelular. A fibrose perivenular caracteriza-se pela presença de fibrose em torno da veia hepática, com extensão de pelo menos mais 2/3 e espessura superior a 4 mm. É considerada lesão pré-cirrótica. Embora raramente o consumo crônico de etanol possa causar quadro histológico caracterizado pela presença de necroses. Cerca de 5% dos pacientes com cirrose alcoólica desenvolvem carcinoma hepatocelular que pode também, embora raramente, se desenvolver em alcoólatras sem cirrose (NALPAS, *et al.*, 1995).

Os principais fatores de riscos para haver o desenvolvimento de doença hepática alcoólica são: quantidade de álcool ingerido, duração (tempo) de ingestão, continuidade, desnutrição e substâncias hepatotóxicas em bebidas alcoólicas (BERG; TYMOCZKO e STRYER, 2004).

## **2.7. Alcoolismo e nutrição**

O álcool pode ser causa tanto de desnutrição primária, pelo fato de deslocar os nutrientes da dieta, como de desnutrição secundária, por ser responsável pela má absorção e agressão celular decorrentes de sua citotoxicidade direta (SARIN *et al.*, 1997).

Níveis circulantes reduzidos de vitamina B6 (piridoxal-5-fosfato) também constituem achado comum nesses pacientes. Além de participar do metabolismo do triptofano na formação de niacina, a vitamina B6 atua, juntamente com o folato e a vitamina B12, na metabolização da homocisteína. A utilização da homocisteína ocorre via remetilação à metionina com participação de folato e vitamina B12 (metionina sintetase) ou via transulfuração à cisteína e taurina, com participação da vitamina B6 (cistationina sintetase) (FEINMAN *et al.*, 1994).



O acúmulo de homocisteína é o principal indicador isolado de aterogênese. A falta de metionina e dos demais fatores lipotrópicos (folato, B12, colina) pode ser responsabilizada pela esteatose hepática (MEZEY, 1991). Além disso, na deficiência de metionina, há menor formação de S-adenosilmetionina (transmetilação) com menor ativação de folato, do tRNA, síntese de creatina, carnitina, lecitina e norepinefrina (COMBS, 1992). A queda da transulfuração e formação da cisteína reduz os níveis de glutathione, diminuindo, assim, parte importante da defesa antioxidante intracelular, o que pode ser agravado pela deficiência de outros minerais como selênio, cofator da glutathione peroxidase, zinco, cofator da superóxido dismutase (ZIMMERMANN *et al.*, 1994).

O efeito do álcool sobre os níveis dessas vitaminas antioxidantes (beta caroteno e vitaminas C e E) pode depender ou não do estado nutricional do paciente. Nos alcoolistas, além da má absorção intestinal, os níveis de alfa-tocoferol são influenciados pela desnutrição protéico-energética, menor estocagem hepática e degradação aumentada pelo hipermetabolismo hepático ou pela peroxidação lipídica. Portanto, no geral, o álcool favorece o estresse oxidativo com peroxidação dos lipídios da membrana dos eritrócitos (provocando anemia) e dos hepatócitos, perpetuando a doença hepática (DICHI e BURINI, 1996).

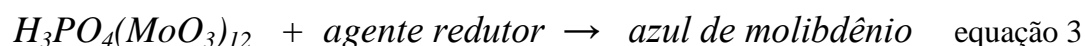
Níveis plasmáticos reduzidos de vitamina A e dificuldade na adaptação visual ao escuro, na cirrose hepática, podem ser atribuídos a menor mobilização hepática dessa vitamina por falta da sua proteína transportadora, o complexo proteína ligadora do retinol-transtretina, em consequência da desnutrição protéico-energética ou da deficiência de zinco (CALAMITA e BURINI, 1995).

Os níveis circulantes de Zn no soro dos pacientes cirróticos encontram-se usualmente reduzidos pela menor ingestão e absorção ou, mesmo, maior excreção urinária. Essa deficiência de zinco agrava a deficiência de niacina pela menor síntese de ácido nicotínico, via triptofano. Juntamente com a pelagra, a neuropatia alcoólica (pela deficiência de B1) é outro sinal de hipovitaminose comum nos pacientes alcoolistas (FEINMAN *et al.*, 1994).

## **2.8. Determinação de fósforo**

Para a determinação de fósforo, o método espectrofotométrico azul de molibdênio é um dos mais recomendados na determinação de fósforo em baixas concentrações (ESTELA e CERDÁ, 2005). Este processo consiste na condensação de íons ortofosfato

e molibdato, em solução ácida, para a formação do ácido molibdofosfórico (equação 2) que, por redução, (estado de oxidação +6 para +5) produz um complexo de coloração azul de composição incerta (equação 3). A intensidade da coloração azul é proporcional à quantidade de fosfato inicialmente incorporada ao heteropoliácido (BASSETT *et al*, 1981).



### 3.0. OBJETIVOS

#### 3.1. Objetivo geral

- Avaliar e comparar o mineralograma do sangue e dos pelos púbicos de pessoas alcoolistas e etilistas.

#### 3.2. Objetivos específicos

- Estudar os efeitos sinérgico e antagônico do Cu com outros minerais, como o Zn, Mg, Fe, K, P, Ca e Mn no organismo humano;
- Verificar a influência do cobre no organismo de pessoas usuárias de cachaça.

### 4.0. CASUÍSTICA E MÉTODOS

#### 4.1. Aprovação do trabalho e recrutamento dos sujeitos de pesquisa

Para a execução deste trabalho, o mesmo foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Ser Humano na Universidade Federal de Uberlândia (CEP/UFU), recebendo o Registro CEP/UFU N°. 241/10 e parecer de aprovação 410/10 em 02 de julho de 2010.

Foram avaliados 30 sujeitos, todos do sexo masculino acima de 18 anos de idade, e divididos em dois grupos: sendo o grupo A formado por 15 sujeitos alcoolistas e sem cirrose hepática e o grupo B ( grupo controle) formado por 15 sujeitos não etilistas.

O recrutamento do grupo A foi feito no CAPS – Centro de Apoio Psíquico Social da Universidade Federal de Uberlândia e o recrutamento do grupo C, foi feito no Setor de Ortopedia do Hospital das Clínicas da UFU. Durante a abordagem, foram aplicados dois questionários: o primeiro questionário trata sobre a frequência em que os sujeitos ingerem a cachaça e sobre seus dados individuais: idade, tempo, quantidade de cachaça ingerida e sintomas relacionados com o desequilíbrio de alguns minerais (Anexo 1) e o segundo questionário intitulado de “Teste como está sua alimentação” (Anexo 2). O primeiro questionário foi formulado baseado na literatura sobre os efeitos do desequilíbrio de cobre no organismo humano sobre os minerais Cu, Zn, Fe, P, Ca, Mg, Mn, K. Antes da coleta do material biológico, foram repassados todos os esclarecimentos aos sujeitos de pesquisa quanto à intoxicação por cobre ocasionado pela ingestão da cachaça, sobre a pesquisa de modo geral e sobre os riscos e benefícios proporcionados pela pesquisa. Eles foram informados sobre a sua participação voluntária na pesquisa, assim como todos os itens citados na Resolução 196/96/CNS sobre os sujeitos de pesquisa. Todos concordaram em participar voluntariamente e assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, cujo modelo que foi aplicado encontra-se no Anexo 3.

## **4.2. Reagentes e soluções padrão**

Todos os reagentes e soluções padrões empregados neste trabalho foram de grau analítico obtidos da Sigma. As soluções utilizadas para a construção das curvas de calibração para cada mineral, foram obtidas a partir da diluição da solução mãe de 1000 mg.L<sup>-1</sup> para outras concentrações adequadas.

## **4.3. Coleta e abertura da amostra biológica**

### **4.3.1. Sangue**

Foram coletados de cada paciente 10 mL de sangue venoso em tubos especiais livres de silício, heparinizados e digeridos em forno de microondas; 5mL foi analisado no Instituto de Química da Universidade Federal de Uberlândia e 5 mL foi analisado

pela empresa BioMinerais – SP; a digestões das amostras foram realizadas no Laboratório da Profa. Dra. Nívia Maria Melo Coelho; após a digestão, elas foram encaminhadas para a análise dos minerais nos equipamentos da empresa Biominais.

A digestão das amostras de sangue foi feita no Digestor por Microondas DGT, em frascos de Teflon. Este tipo de abertura da amostra foi escolhido por ser um sistema fechado, que evita perda de amostra e por ser um método de simples execução. Para a digestão procedeu-se da seguinte maneira: dois gramas de sangue foram pesados em uma balança analítica; a essa massa foram acrescentados 0,25µL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 30%, 1,0mL de H<sub>2</sub>O e 4,0mL de HNO<sub>3</sub> 65% nas potências mostradas na Tabela 1 conforme as recomendações do fabricante do equipamento. Os frascos foram fechados e levados ao forno de microondas. No final da digestão, as amostras foram resfriadas e completadas com água deionizada até o volume de 10 mL.

**Tabela 1: Etapas para a digestão do sangue no Microondas DGT**

<b>Etapa</b>	<b>Potência (W)</b>	<b>Tempo (min)</b>
1 <sup>a</sup>	400	5
2 <sup>a</sup>	790	5
3 <sup>a</sup>	0	3

#### **4.3.2. Pelos púbicos**

Foram coletados de cada paciente aproximadamente 0,5 gramas de pelos púbicos e o mesmo foi armazenado em saquinhos plásticos. Os pelos foram coletados pelo próprio sujeito de pesquisa, com tesoura de aço inoxidável comprada para esse fim; a preferência pelos pelos púbicos foi em decorrência da possibilidade de os pelos das outras partes do corpo estarem contaminados por outras fontes como tintura, contaminação do ar, etc

As amostras dos pelos foram analisadas, em toda a sua integralidade, pela Empresa Biominais e foram pagas pela Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação, com verba destinada à Pós Graduação na UFU. Segue a forma como a Biominais fez a digestão das amostras de pelos: a digestão das amostras de cabelo foram feitas em frascos para digestão e 0,35 gramas de cabelo foram pesados em uma balança analítica. Nesta massa, foram acrescentados 3,0 mL de HNO<sub>3</sub> 65% e 0,25mL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>30% nas

potências indicadas na Tabela 2 conforme as recomendações do fabricante do equipamento. Os frascos foram então fechados e levados ao forno de microondas. No final da digestão, as amostras foram resfriadas e completadas com água desionizada até volume de 10mL.

**Tabela 2: Etapas para a digestão do cabelo no Microondas DGT**

<b>Etapa</b>	<b>Potência (W)</b>	<b>Tempo (min)</b>
1 <sup>a</sup>	400	7
2 <sup>a</sup>	0	3

#### **4.4. Preparação das soluções utilizadas para a determinação de fósforo**

- **Solução de ácido ascórbico ( $C_6H_8O_6$ )**

Para a preparação da solução de ácido ascórbico  $H_3PO_4(MoO_3)_{12}$ , procedeu-se da seguinte maneira: pesou-se 4,40 g de ácido ascórbico ( $C_6H_8O_6$ ) em um béquer que foi solubilizada com um pouco de água destilada; transferiu-se para um balão volumétrico de 250mL e completou com água destilada até o menisco, obtendo-se uma solução de concentração  $0,1\text{mol.L}^{-1}$ .

- **Solução de Molibdato de amônia  $((NH_4)_6Mo_6O_{24}.4H_2O)$   $0,025\text{ mol.L}^{-1}$  em  $H_2SO_4$   $1,5\text{ mol.L}^{-1}$**

A solução de Molibdato de amônia  $0,025\text{ mol.L}^{-1}$  em  $H_2SO_4$   $1,5\text{ mol.L}^{-1}$  foi utilizada juntamente com a solução de ácido ascórbico já preparada para determinação do fósforo pelo método espectrofotométrico. Para a preparação da solução de  $(NH_4)_6Mo_6O_{24}.4H_2O$ , pesou-se 3,0896 g do presente sal em um béquer, solubilizou-se essa massa em um pouco de água destilada e transferiu-se este volume para um balão volumétrico de 100 mL. Posteriormente, pipetou-se 8,015 mL de  $H_2SO_4$  concentrado e adicionou-se no mesmo balão. Em seguida, completou com água destilada até o menisco, obtendo uma solução de Molibdato de amônia  $0,025\text{ mol.L}^{-1}$  e  $H_2SO_4$   $1,5\text{ mol.L}^{-1}$ .

#### 4.5. Leitura das amostras

- **Espectrofotometria UV-Vis**

Para a determinação de fósforo no sangue, as leituras foram realizadas em um comprimento de onda de 660 nm num Espectrofotômetro Femton 600S UV-Vis e foram utilizadas as soluções descritas item 4.4.

- **Espectroscopia de absorção atômica (AAS)**

As medidas de absorbância (altura de pico) foram obtidas em espectrômetro de absorção atômica. Foram utilizadas lâmpadas de cátodo oco para Cu ( $\lambda = 324,7$  nm), Zn ( $\lambda = 213,9$  nm), Fe ( $\lambda = 248,3$  nm) e Mg ( $\lambda = 285,2$  nm), cada uma operando a 10mA, vazão do gás oxidante de 15 L/min (ar comprimido) e do combustível de 2,2 L/min (acetileno) com a temperatura da chama de 2400°C.

- **Espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP- OES)**

As concentrações dos minerais Ca, Mg, Na, K, Fe, Mn, Zn, Cu, Cr, Se, V e Sr presentes nos pelos púbicos e no sangue foram determinados utilizando-se um espectrômetro de emissão óptica em plasma de argônio com acoplamento indutivo de Perkin Elmer, modelo Optima 3000DV. As condições utilizadas foram: tempo de integração e de leitura 5,0 segundos, vazão de argônio principal de 15 L/min, elementos ( $\lambda$  em nm): Ca = 317,933; Mg = 280,270; Na = 598,0; K = 766,5; Fe = 238,204; Mn = 257,610; Zn = 213,856; Cu = 324,754; Cr = 327,9; Se = 196,026; V = 318,423 e Sr = 460,754.3

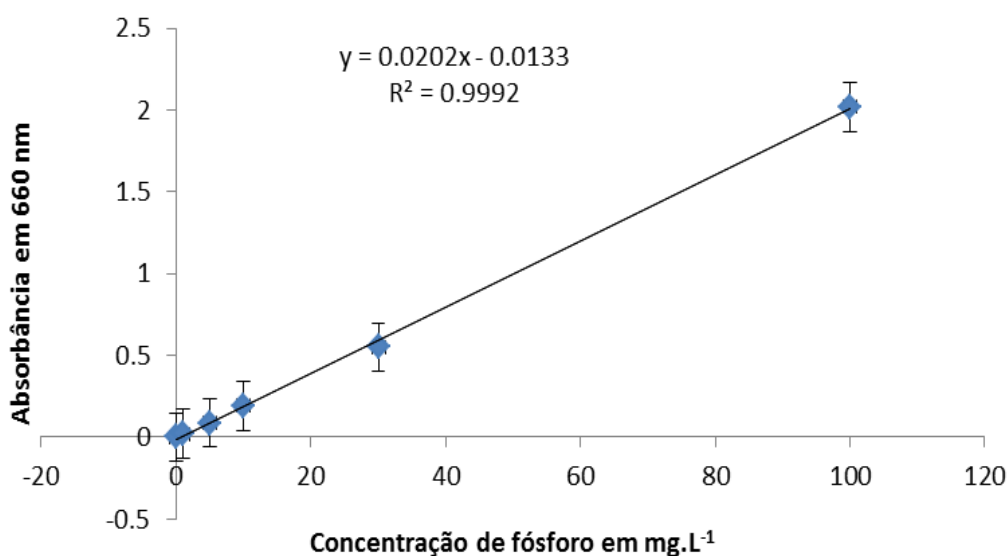
#### 4.6. Análise estatística

A análise estatística foi realizada pelo programa BioStat versão 5.0. Devido à distribuição não normal de probabilidade dos resultados obtidos, foi utilizado o teste de Mann Whitney (teste não paramétrico), que consiste em averiguar se as medianas  $\mu_X$  e  $\mu_Y$  são iguais de duas populações independentes X e Y. Uma diferença estatisticamente significativa (grau de significância, p) é aquela onde a probabilidade dela ter ocorrido ao acaso é considerada baixa o suficiente (menor ou igual a 5%). Desta forma, resultados com  $p < 0,05$  foram considerados significativos.

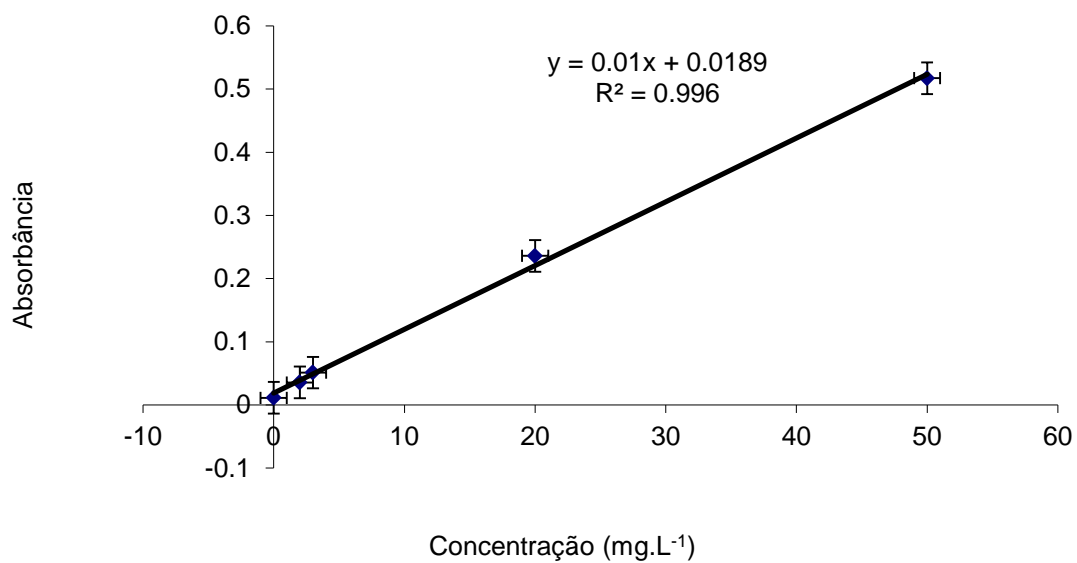
## 5.0. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os dados individuais de cada sujeito mostraram que a idade média dos pacientes do grupo A foi de 46 anos, sendo que cada sujeito começou fazer uso da cachaça por volta dos 14 anos de idade, ingerindo aproximadamente 1,5 litros da bebida por dia e, a idade média do grupo B foi de 47 anos.

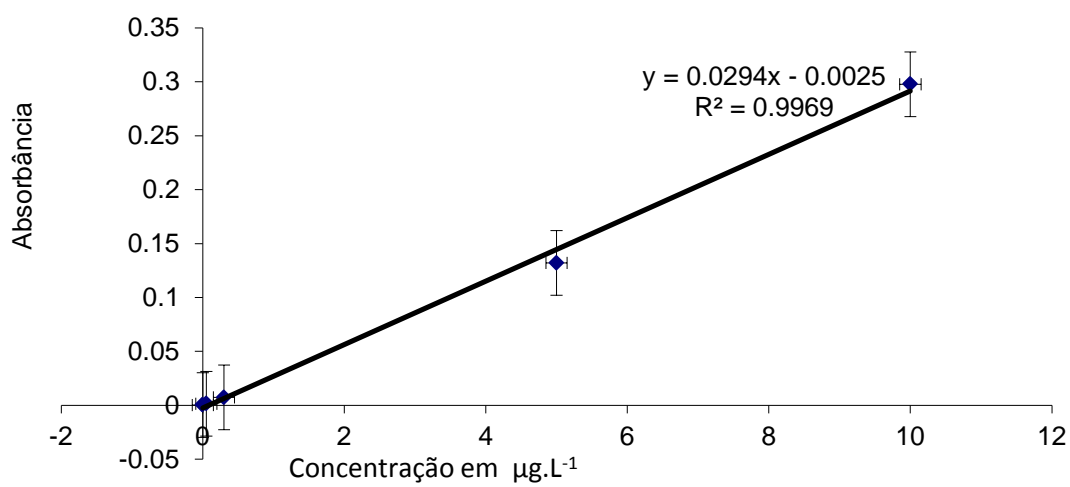
As concentrações dos minerais Zn, Cu, Mg, Fe e P presentes no sangue de cada paciente encontram-se na tabela 6, sendo que as concentrações dos metais Zn, Cu, Mg e Fe foram obtidas por Espectroscopia de Absorção Atômica e o fósforo pela análise espectrofotométrica do azul de molibdênio. A curva de calibração para a análise de fósforo utilizando o método de espectrometria do azul de molibdênio encontra-se na figura 5 e as curvas de calibração para o Zn, Cu, Fe e Mg obtidos por Espectroscopia de Absorção atômica se encontram nas figuras 6, 7, 8 e 9 respectivamente.



**Figura 5: Curva de calibração do fósforo obtida no espectrofotômetro UV-Vis.**

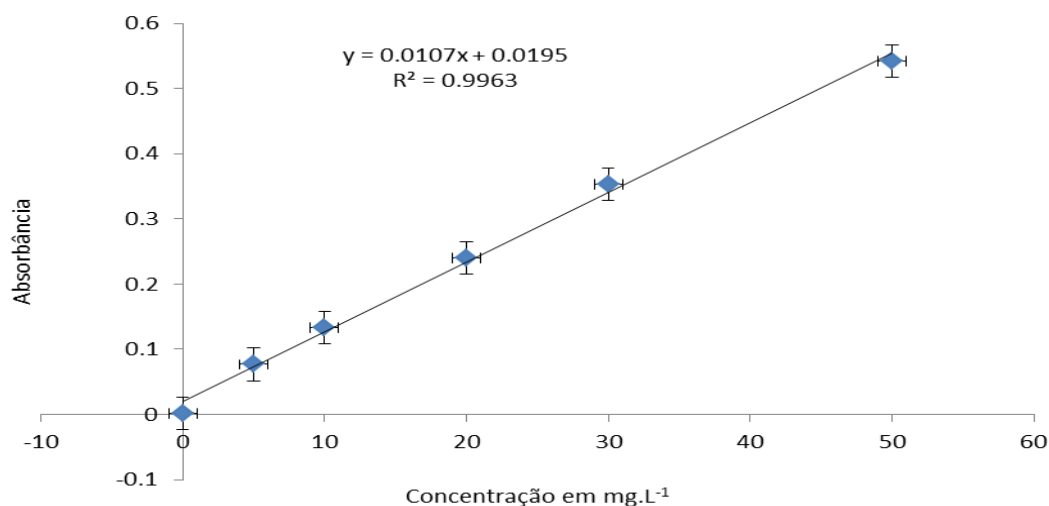


**Figura 6: Curva de calibração do Zinco**

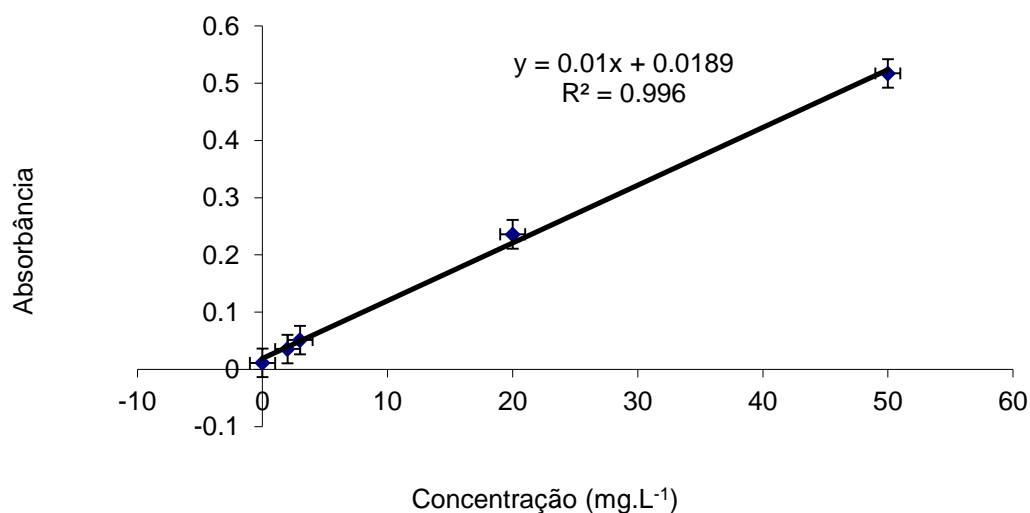


**Figura 7: Curva de calibração do Cobre**





**Figura 8: Curva de calibração do Ferro**



**Figura 9: Curva de calibração do Magnésio**

Os resultados que mostram os mineralogramas dos pelos púbicos e do sangue se encontram nas tabelas 3 e 8 respectivamente. As médias das concentrações dos minerais que foram quantificados nos materiais biológicos citados acima se encontram nas Tabelas 4 e 10.

Por meio da análise dos resultados pode-se observar tanto no mineralograma dos pelos púbicos quanto no mineralograma do sangue, que os pacientes alcoolistas apresentaram um aumento significativo nas concentrações de cobre, ferro, manganês e sódio em relação ao grupo controle. As médias das concentrações destes metais

presentes nos pelos púbicos do grupo A foram: cobre ( $9,6\mu\text{g.L}^{-1}$  com  $p = 0,0144$ ); ferro ( $83,8 \text{ mg.L}^{-1}$  com  $p = 0,029$ ); manganês ( $2,894 \text{ mg.L}^{-1}$  com  $p = 0,021$ ) e sódio ( $1041,13 \text{ mg.L}^{-1}$  com  $p = 0,0401$ ). Já a concentração de zinco no grupo de pacientes alcoolistas, estava menor quando comparada ao grupo controle, como pode ser observado nas Tabelas 4, 7 e 9. Para a minoria dos sujeitos alcoolistas, a concentração de zinco estava dentro dos valores adequados provavelmente por apresentar uma alimentação mais equilibrada, como pode ser observado na Tabela 10.

**Tabela 3: Mineralograma dos pelos púbicos em  $\text{mg.L}^{-1}$  realizado pela empresa BioMinerais no Espectrômetro de Emissão Atômica por Plasma Indutivamente Acoplado. (Grupo dos alcoolistas: 1A – 15A; grupo controle: 16C – 30C).**

Amstras	[P]	[Ca]	[Mg]	[Na]	[K]	[Fe]	[Mn]	[Zn]	[Cu]	[Cr]	[S]	[Se]	[V]
1A	208	527	26	411	135	12	0,93	132	5	0,17	31242	0,41	0,06
2A	200	382	13	214	149	16	0,32	145	6	0,09	42845	0,47	0,06
3A	190	777	70	2044	730	139	3,79	144	14	0,38	39460	0,61	0,5
4A	238	1646	81	651	259	170	4,87	141	10	0,56	37988	0,52	0,39
5A	219	417	110	4920	1173	22	1,97	107	17	0,24	33097	0,25	0,06
6A	181	490	48	227	154	301	3,62	128	3	1,18	28825	0,28	1,02
7A	139	466	37	75	70	136	6,72	90	5	0,62	30794	0,1	0,62
8A	137	257	20	623	230	80	1,18	118	3	0,34	29880	0,11	0,19
9A	106	1553	311	521	158	117	1,85	112	8	0,56	27746	0,23	0,51
10A	383	3643	265	1736	563	163	9,5	132	30	0,55	30172	0,17	0,19
11A	291	1042	11	1530	519	23	3,63	120	14	0,17	32615	0,24	0,25
12A	149	552	79	629	247	15	0,51	133	9	0,14	40038	0,35	0,06
13A	257	619	29	1088	310	37	2,09	123	7	0,16	42962	0,52	0,24
14A	283	1071	101	663	195	14	2,07	100	9	0,23	25829	0,3	0,06
15A	184	388	14	285	245	12	0,36	110	4	0,03	38927	0,48	0,06
16C	235	888	69	955	567	11	0,59	113	4	0,12	30778	0,5	0,06
17C	258	300	15	326	325	20	0,73	107	10	0,08	36123	0,5	0,06
18C	176	335	13	531	235	12	0,37	124	2	0,41	37323	0,33	0,06
19C	176	867	76	582	231	52	4,95	114	12	0,35	35285	0,17	0,23
20C	168	1256	56	429	319	56	1,26	189	9	0,21	41672	0,27	0,06
21C	111	403	17	108	41	18	0,32	117	0,030	0,06	30981	0,56	0,06
22C	148	303	18	124	15	13	0,13	94	0,030	0,14	34841	0,27	0,06
23C	175	658	84	100	131	101	1,66	136	7	0,68	35287	0,1	0,3
24C	127	252	17	269	48	14	0,23	200	3	0,08	34151	0,31	0,06
25C	144	1118	60	219	57	20	3,22	117	6	0,13	33916	0,36	0,07
26C	129	275	13	269	178	12	0,14	60	0,030	0,07	36220	0,53	0,06
27C	164	861	21	330	128	33	0,69	153	2	0,13	34858	0,25	0,06
28C	265	266	16	417	336	45	0,8	126	5	0,19	44482	0,25	0,06
29C	175	310	12	117	79	43	0,67	163	4	0,17	40606	0,28	0,09
30C	186	317	19	1219	297	18	0,23	134	3	0,06	41635	0,19	0,06

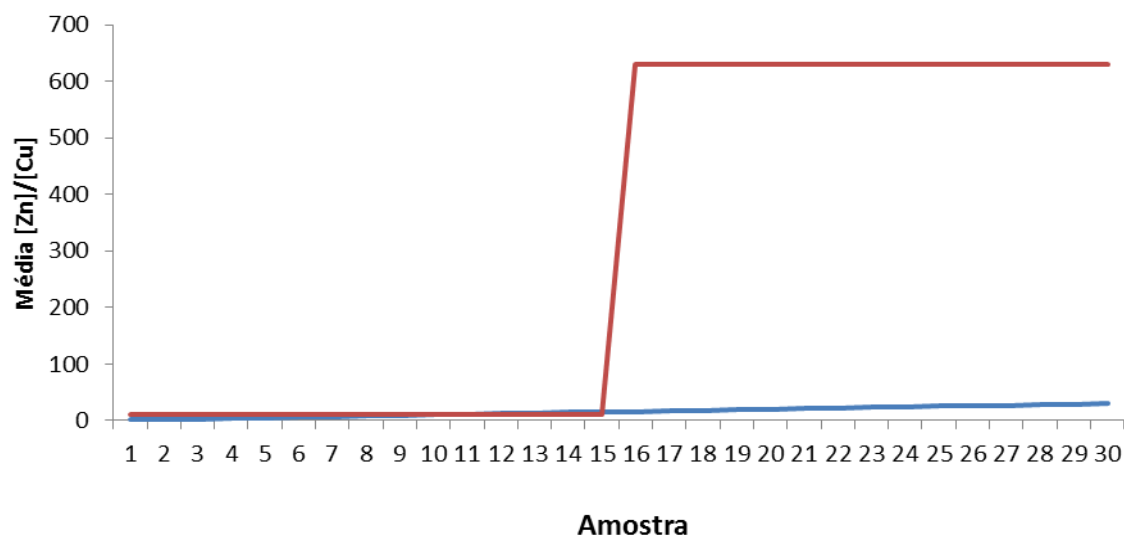
**Tabela 4: Média das concentrações dos minerais presentes nos pelos púbicos dos pacientes.**

Minerais	Média (mg.L <sup>-1</sup> )		Mediana (mg.L <sup>-1</sup> )		p
	Grupo A	Grupo C	Grupo A	Grupo C	
[P]	211	175,8	200	175	0,119
[Mn]	2,894	1,066	2,07	0,67	0,021
[Fe]	83,8	31,2	37	20	0,029
[Zn]	122,33	129,8	123	124	0,6482
[K]	342,27	199,13	245	178	0,1524
[Cu]	9,6	4,47	8	4	0,0144
[Mg]	81	33,73	48	18	0,0779
[Na]	1041,13	399,67	629	326	0,0401
[V]	0,28	0,09	0,19	0,06	0,04
[Cr]	0,36	0,19	0,24	0,13	0,0421
[Se]	0,34	0,32	0,3	0,28	1,000
[S]	33288,13	36543,87	31242	35287	0,0649
[Ca]	922	560,6	552	335	0,1013

O tratamento estatístico foi feito utilizando o programa BioStat versão 5.0 efetuando-se o teste de Mann Whitney. Este teste averigua a significância estatística (p) entre as medianas de duas populações independentes.

Os metais podem afetar a biodisponibilidade de outros metais. Isto ocorre quando um elemento se assemelha a outro na estrutura eletrônica, que tende então a exercer uma ação antagonista. Este fato pode ser exemplificado pelo aumento da concentração de cobre no organismo de pessoas alcoolistas e uma tendência na diminuição da concentração de zinco (BENITE, MACHADO e BARREIRO,2007). Tal diminuição pode ser verificada na figura 10 que representa a relação das médias das concentrações de zinco e cobre quando se compara o grupo de pessoas alcoolistas e o grupo controle.

A diminuição de zinco nos pacientes alcoolistas, em relação ao grupo controle, ocorreu, provavelmente, pela ingestão de bebida alcoólica, pois o metabolismo do etanol compromete a absorção de vários minerais e vitaminas (LIEBER, 1991). É possível que, ao ingerir a cachaça, o alcoolista pode estar intoxicando-se com o cobre, o que pode estar causando a diminuição do zinco e outros minerais. A deficiência de zinco é capaz de afetar o desenvolvimento cognitivo, alterando a atenção, o comportamento neurofisiológico e a atividade motora. Esse íon é essencial à fisiologia neural: age como fator modulador da resposta sináptica, destacando-se que sua ação afeta profundamente as sinapses excitatórias, o que, obviamente, gera modificação na transmissão neural (MARTINEZ-GUIZARRO *et al*, 1991).



**Figura 10: Média da razão de [Zn]/[Cu] existente no cabelo humano, sendo que as amostras de 1 a 15 representam os sujeitos usuários de cachaça e as amostra de 16 a 30, representam o grupo controle**

Shuttleworth (1986) destacou que um desequilíbrio entre zinco e cobre, com níveis altos de cobre e baixos de zinco, tem sido observado no câncer de pulmão, havendo necessidade, contudo, de melhor elucidação da função dos elementos-traço nos estados pré-cancerosos.

Nos últimos anos, o número de pessoas que apresentaram doença de Alzheimer aumentou significativamente, principalmente em países desenvolvidos, onde se utilizam encanamentos de cobre (BREWER,2009). Há também outros estudos em humanos, evidenciando que o cobre proveniente de suplementos alimentares, está associado à diminuição da capacidade cognitiva (MORRIS, 2006).

A Tabela 5 mostra os valores aceitáveis (valores mínimos e máximos) da concentração dos minerais existentes nos pêlos púbicos do ser humano, encontrados no laboratório da empresa BioMinerais.

**Tabela 5: Concentrações mínima e máxima em mg.L<sup>-1</sup> dos diferentes minerais presentes nos pelos púbicos (BIOMINERAIS)**

	[P]	[Ca]	[Mg]	[Na]	[K]	[Fe]	[Mn]	[Zn]	[Cu]	[Cr]	[S]	[Se]	[V]	[Sr]
<b>Valor mínimo</b>	120	280	34	28	5	10	0,24	125	8	0,3	21200	0,18	0,1	0,5
<b>Valor máximo</b>	209	2500	200	400	165	47	1,0	240	45	1,4	45000	2,5	0,4	11

**Tabela 6: concentração de minerais em  $\text{mg.L}^{-1}$  no sangue humano realizado no laboratório da UFU. As concentrações que estão com o asterisco (\*) estão em  $\mu\text{g.L}^{-1}$ . As siglas A1 até A15 referem-se ao sangue dos sujeitos de pesquisa usuários de cachaça; da C16 até C30 ao sangue dos sujeitos de pesquisa controle.**

Amostras	[Zn]*	[Cu]*	[Fe]	[Mg]	[P]
A1	1311,7	221,8	72,2	10,2	70
A2	1484,1	370,4	170,8	15,3	120,8
A3	1636,5	355,3	144,6	26,4	118
A4	1049,2	426,4	141	19	118
A5	1513,1	263,8	230,2	17,8	162,5
A6	943,8	305,7	242,7	23,6	159
A7	1584,33	293	232	21	160,7
A8	1616,2	196,2	157	39	119
A9	1289,6	244,6	161,4	17	135
A10	1286,7	420	171,7	23,6	131,5
A11	2438,8	280	197,3	10	157
A12	1396,7	313	162	9,2	123,2
A13	2013	273,2	151	9,3	113,6
A14	1834,2	288,1	200	10	154
A15	1860,8	265,3	190,8	10,8	140,8
C16	1861,2	267,4	176,7	9	107
C17	1563,7	195,4	126	6,4	80,3
C18	1586,3	250,3	164,2	9	112
C19	1841	282,7	187,6	9	131,5
C20	1775,8	260	153	9	118
C21	1381,3	240	147	8,3	102
C22	1970,2	286,7	233,3	10	148,3
C23	1434,4	210	123,5	6,4	82,7
C24	1647,3	226	197,2	10	128
C25	2048,5	291	188,6	10	132,6
C26	706	268,6	201	11,3	130
C27	1618,1	302,8	221,5	11	137
C28	930,4	453	116	9,2	116,8
C29	1515,2	259,8	188,6	10	142
C30	1441	306,1	186	11,3	123,4

**Tabela 7: Média das concentrações em  $\text{mg.L}^{-1}$  dos minerais quantificados nos sangue dos pacientes. O asterisco (\*) indica que as concentrações estão em  $\mu\text{g.L}^{-1}$ . (Laboratório da UFU).**

Minerais	Média		Mediana		p
	Grupo A	Grupo C	Grupo A	Grupo C	
[Zn]*	1550,58	1554,69	1513,1	1586,3	0,5755
[Cu]*	301,12	273,32	288,1	267,4	0,088
[Mg]	16,09	9,96	10,8	10	0,039
[Fe]	175	174,10	170,8	186	0,9179
[P]	128	122	159	142	0,5723

**Tabela 8: Mineralograma do sangue em  $\text{mg.L}^{-1}$  realizadas no Espectrômetro de Emissão Atômica com plasma Indutivamente Acoplado . As concentrações que estão com o asterisco (\*) estão em  $\mu\text{g.L}^{-1}$ . Laboratório da Empresa Biominerais.( Grupo dos alcoolistas: 1A – 15A; grupo controle: 16C – 30C).**

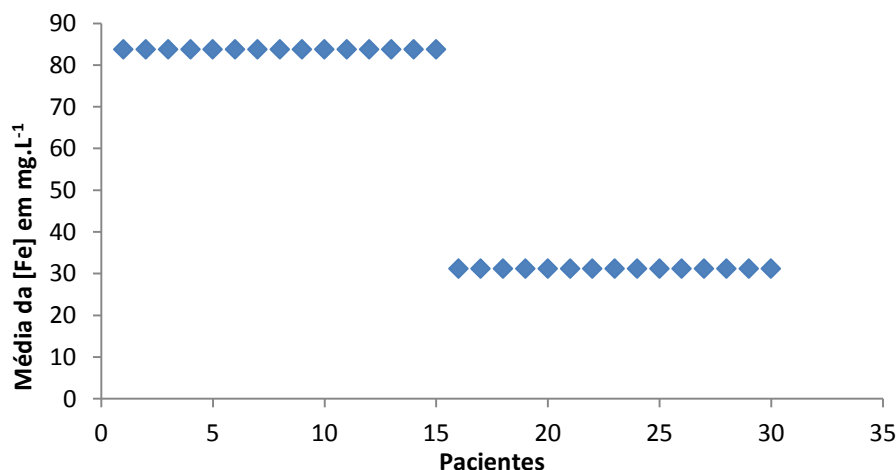
Amostras	[P]	[Ca]	[Mg]	[Na]	[K]	[Fe]	[Mn]*	[Zn]*	[Cu]*	[S]	[Se]*	[Sr]*
1A	71	19	11	780	390	73	3	1313	223	362	19	12
2A	122	20	16	730	680	172	4	1485	372	545	4	18
3A	119	17	28	760	680	146	4	1638	356	477	14	21
4A	119	17	20	650	550	142	4	1040	427	488	14	14
5A	164	13	19	710	700	231	3	1514	265	599	12	12
6A	160	13	25	670	710	244	2	946	307	617	20	11
7A	162	18	22	680	740	233	7	1585	294	629	38	17
8A	120	16	40	920	1290	158	12	1617	197	484	13	27
9A	136	17	18	690	750	163	3	1290	246	531	12	12
10A	133	17	25	690	750	173	4	1288	421	541	11	15
11A	158	17	111	670	840	199	8	2440	287	576	20	8
12A	124	16	10	660	710	163	6	1396	313	485	18	5
13A	115	19	10	690	670	153	8	2014	274	485	16	7
14A	155	20	11	640	740	201	9	1835	289	571	18	9
15A	142	18	12	620	760	192	7	1862	267	565	20	11
16C	108	13	10	580	720	178	6	1862	269	507	15	7
17C	82	16	7	480	470	127	8	1565	197	393	15	9
18C	113	22	10	610	630	165	10	1587	252	512	11	15
19C	133	20	10	620	650	189	5	1842	283	567	18	14
20C	119	20	10	610	610	154	6	1779	261	495	23	10
21C	103	13	9	560	760	148	5	1384	241	439	21	5
22C	149	14	11	680	720	234	6	1971	288	627	18	5
23C	84	11	7	460	510	124	4	1436	211	370	23	4
24C	129	16	11	660	760	199	6	1648	227	561	19	8
25C	134	16	11	640	660	190	8	2050	292	555	16	6
26C	131	17	13	610	760	202	3	707	270	559	14	15
27C	138	16	12	670	770	223	4	1619	304	609	15	9
28C	118	23	10	840	600	115	5	932	454	460	22	11
29C	143	17	11	690	740	190	9	1516	261	552	20	10
30C	125	19	12	680	740	187	9	1442	307	560	13	11

**Tabela 9: Média das concentrações em  $\text{mg.L}^{-1}$  dos minerais quantificados nos sangue dos pacientes. O asterisco (\*) indica que as concentrações estão em  $\mu\text{g.L}^{-1}$ . (Laboratório da Biominerais).**

Minerais	Média		Mediana		p
	Grupo A	Grupo C	Grupo A	Grupo C	
[P]	133,33	120,6	133	125	0,1249
[Ca]	17,13	16,86	17	16	0,5755
[Mg]	18,53	10,26	18	10	0,015
[Na]	704	626	680	620	0,0058
[K]	730,66	654	710	650	0,0215
[Fe]	176,2	174,06	172	173	0,8834
[Mn]*	5,6	6,26	4	6	0,2998
[Zn]*	1550,93	1556	1585	1587	0,5897
[Cu]*	302,53	274,46	172	173	0,2324
[S]	531,8	529,73	541	555	0,9835
[Se]*	16,6	17,53	16	18	0,2998
[Sr]*	13,26	9,26	12	9	0,0344

A figura 11 mostra a média da concentração de ferro no organismo dos sujeitos de pesquisa. A faixa de concentração considerada normal de ferro no cabelo é de 10 a 47  $\text{mg.L}^{-1}$ . É possível observar que no grupo controle, a média apresenta valor de 31,2  $\text{mg.L}^{-1}$ , encontrando-se dentro desta faixa, ao passo que no grupo de sujeitos consumidores de cachaça, a média da concentração de ferro possui valor de 83,8  $\text{mg.L}^{-1}$ , um número bastante elevado em comparação ao grupo C. Isto pode ocorrer porque a cachaça pode conter níveis elevados de ferro, justificando a raridade de anemia por deficiência de ferro em alcoólatras, exceto quando há sangramento gastrointestinal no paciente (LIEBER, 1991).

Pessoas com acúmulo de ferro no organismo podem desenvolver uma anomalia chamada hemocromatose, onde o excesso de ferro acumula-se no fígado, pâncreas e coração, podendo levar a um quadro de cirrose, tumores hepáticos, *diabetes mellitus* e insuficiência cardíaca, isso porque a transferrina sérica nestes pacientes pode estar quase completamente saturada com ferro (HENTZE *et al.*, 1996).



**Figura 11: Média da concentração de ferro no cabelo humano. As amostras de 1 a 15 representam o grupo de alcoolistas e as amostras de 16 a 30, representam o grupo controle.**

As concentrações elevadas de cobre, manganês e ferro no organismo humano, estão associadas com doenças neurodegenerativas, como mal de Parkinson, Doença de Alzheimer e esclerose múltipla (BREWER, 2010). Esses metais de transição como o Mn, Cu e o Fe, podem doar ou aceitar elétrons livres durante reações intracelulares, catalisando a formação de radicais livres, como na reação de Fenton (equação 1) (KUMAR, 2006). Os radicais livres formados, por sua vez, são extremamente tóxicos, pois danifica lipídios, proteínas, DNA e RNA celulares, levando a várias formas de lesão celular (MARKS, 2006).

Estudos sugerem que o cobre não influencia somente a formação das placas Senis, mas também ele está relacionado na formação de emaranhados neurofibrilares, e que a proteína amiloide beta envolvida na patogênese da doença de Alzheimer, possui alta afinidade pelo cobre. A ligação deste metal com esta proteína, possivelmente promove a toxicidade da amiloide beta por meio da formação de peróxido de hidrogênio e a geração subsequente de radicais livres através da reação de Fenton (equação 1), como tem sido amplamente relatado para Fe (HUANG, 1999).

A concentração de magnésio nos pelos púbicos dos sujeitos que ingerem cachaça apresenta-se aumentada em relação ao grupo controle, indicando que realmente estavam perdendo magnésio presente no organismo, isso pode ser verificado observando-se o mineralograma do sangue que é mostrado nas Tabelas 4 e 5.



Assim como a urina, o cabelo humano funciona como uma forma de excreção de substâncias que estão em excesso ou que o próprio organismo esteja perdendo devido a um fator externo, como por exemplo, a bebida alcoólica (POZEBON, 1999).

Do ponto de vista clínico, a hipercalemia pode manifestar-se desde a ausência de sintomas até a parada cardíaca. As células excitáveis são as mais sensíveis às concentrações elevadas de potássio, entre elas as células do miocárdio e as neuromusculares, com sintomas de fraqueza, paralisia muscular (até mesmo respiratória) etc. (VIEIRA NETO, 2003).

Um dos fatores que pode estar contribuindo para o aumento da concentração de potássio tanto no sangue quanto nos pelos do grupo de alcoolistas em relação ao grupo controle, é a acidose metabólica causada pelo próprio metabolismo do álcool. A acidose provoca a saída de potássio do meio intra para o extracelular, aumentando sua concentração sérica. Isto ocorre porque, quando o excesso de íons  $H^+$  é adicionado ao plasma, a maior parte é tamponada no compartimento intracelular e, para que esses íons entrem nas células, eles são trocados por íons  $Na^+$ , através do trocador  $Na^+ - H^+$ , o que diminui a concentração de  $Na^+$  intracelular, e, conseqüentemente, sua disponibilidade para ser trocado pelo  $K^+$  através da bomba de sódio e potássio. Dessa maneira, menor quantidade de  $K^+$  entra nas células (VIEIRA NETO, 2003).

**Tabela 10: perfil dos sujeitos de pesquisa**

	<b>Grupo controle</b>	<b>Grupo alcóolatra</b>
<b>Péssima alimentação</b>	6,67%	46,67%
<b>Alimentação perto da desejável</b>	73,33%	53,33%
<b>Alimentação balanceada</b>	20,0%	0,00%
<b>Apresentaram Irritabilidade e raiva frequentemente</b>	20,0%	66,67%
<b>Apresentaram tristeza e algum tipo de depressão</b>	0,00%	60%
<b>Queda de cabelo</b>	13,33%	46,66%

Os resultados obtidos nessa pesquisa indicam que a ingestão da cachaça pode causar um aumento na concentração do cobre, diminuição do zinco e desequilíbrio de outros minerais, tais como Mg, Na, K, Mn e Fe, num efeito antagônico e sinérgico entre eles (BENITE, MACHADO e BARREIRO, 2007). Esses efeitos são corroborados pela alimentação inadequada dos jeitos de pesquisa alcoolista, o que impede a reposição e

restauração do equilíbrio de seus minerais (Anexo 1 e Anexo 2). Pela Tabela 10, e pela análise dos questionários aplicados aos sujeitos de pesquisa, pode-se observar uma relação entre o mineralograma dos pelos púbicos e esses questionários respondidos pelos pacientes: 46,67% do grupo alcoolista apresentaram uma péssima alimentação e queda de cabelo; 66,67% sentem raiva e ficam irritados com facilidade. Estes fatos condizem com o mineralograma dos pelos púbicos que mostra que 46,66% dos sujeitos alcoolistas apresentaram uma tendência da diminuição da concentração de zinco.

Desta forma, acredita-se que uma das razões que os sujeitos alcoolistas não consigam dormir bem, apresentaram manchas brancas nas unhas, cabelos brancos ou amarelados e finos, apresentaram sensação de fraqueza, respiração cansada, irritabilidade, raiva frequente e depressão, seja provocado pelo desequilíbrio dos minerais (PRASAD, 1996; BREWER, 2010). Em razão disso, eles não conseguem restaurar o seu equilíbrio emocional, o que dificulta a cura do vício; os sujeitos de pesquisa alcoolistas estão em um círculo vicioso: ingere a cachaça – intoxica-se com o cobre – desequilibra o zinco e outros minerais pelo efeito antagônico e sinérgico entre eles – alimenta-se mal – em consequência apresenta sintomas de depressão e outros – volta para a ingestão de cachaça.

## **6. CONCLUSÃO**

Considerando os resultados obtidos, percebe-se que há um círculo na vida dos sujeitos de pesquisa de onde eles não conseguem sair com facilidade: ingerem a cachaça – intoxicam-se com o cobre – desequilibram o zinco e outros minerais pelo efeito antagônico e sinérgico entre eles – alimentam-se mal – em consequência, apresentam sintomas de depressão e outros – voltam para a ingestão de cachaça.

Acredita-se que, provavelmente, uma das razões pela qual os sujeitos de pesquisa voltem a beber seja o seu estado emocional debilitado, causado em parte, pelo desequilíbrio de minerais levado pela ingestão da própria bebida. Infere-se que se esses sujeitos de pesquisa forem tratados de modo a equilibrarem seus minerais eles terão uma chance maior de se recuperarem do vício.

## **7. TRABALHOS FUTUROS**

Os resultados desse trabalho serão encaminhados para o Dr. Luis Carlos Marques de Oliveira, Dra. Dáurea Abadia de Souza e Dra. Grazielle Benedetti para que eles possam direcionar o tratamento dos sujeitos de pesquisa e darem orientações sobre uma melhor alimentação para a melhoria de sua recuperação do alcoolismo.

Expandir esse trabalho para um maior número de sujeitos de pesquisa, com análise da cachaça de mesma marca que consomem, no sentido de fazer o vínculo cachaça – equilíbrio de minerais com maior sustentabilidade em laboratório.

Realizar exames bioquímicos nesses futuros sujeitos de pesquisa que relacionem o desequilíbrio de minerais com as suas consequências, citadas na introdução desse trabalho.

## 8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ASCHNER, M.; GUILARTE, T. R.; SCHNEIDER, J. S.; ZHENG, W. **Manganese: recent advances in understanding its transport and neurotoxicity.** Toxicology and Applied Pharmacology, v. 221, p. 131-147, 2007.

BASSETT, R. C.; JEFFERY, G.H.; MENDHAN, J. **Análise inorgânica quantitativa.** Editora Guanabar S.A., Rio de Janeiro, 4ª edição, 1981.

BEAUMONT, C., VAILONT, S., BERIS, P., BEUZARD, Y., BRUGNARA, C. **Disorders of iron homeostasis, erythrocytes, erythropoiesis.** Genova, Italy: Forum Service Editore, p.393-406, 2006.

BENCZE, K.; BEISEL, S.; PEKAREK, R.S. **Acute stress and trace element metabolism.** International Review of Neurobiology, Suplemento 1, p. 53-82, 1990

BENEDETTO, A.; AU, C.; ASCHNER, M. **Manganese-induced dopaminergic neurodegeneration: insights into mechanisms and genetics shared with parkinson's disease.** Chemical Reviews, v. 109 (10), p. 4862–4884, 2009.

BENITE, A. M. C.; MACHADO, S.P.; BARREIRO, E.J. **Uma visão da química bioinorgânica medicinal.** Química Nova, v.30, nº 8, p. 2062-2067, 2007.

BERG, J. M.; TYMOCZKO, J. L.; STRYER, L. **Bioquímica.** 5ª edição – R.J.: Guanabara Koogan S.A., p. 1059, 2004.

BOZA, Y.; HORII, J. **Influência do grau alcoólico e da acidez do destilado sobre o teor de cobre na aguardente.** Ciência e Tecnologia de Alimentos, Campinas. v.20, n.3, p.279-284, 2000.

BOZA, Y.; HORII, J. **Influência do grau alcoólico e da acidez do destilado sobre o teor de cobre na aguardente.** Ciência e Tecnologia de Alimentos, Campinas. v.20, n.3, p.279-284, 2000.

BRASIL. Instrução Normativa nº 13 de 29 de junho de 2005. **Aprova o Regulamento Técnico para Fixação dos Padrões de Identidade e Qualidade para Aguardente de Cana e para Cachaça.** Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 30 junho de 2005.

BRASIL. **Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**. Decreto número 4851 de 02 de outubro de 2003. Publicado no Diário Oficial da União de 03/10/2003, Brasília, seção 1, p.6.

BRASIL. Portaria nº 371, MARA. Diário Oficial da União, s. 1, p. I, Supl. Brasília, 19/09/1974.

BREMNER I, BEATTIE JH. **Copper and zinc metabolism in health and disease: speciation and interactions**. Proc Nutr Soc; 54:489-499, 1995.

BREWER, G. J. **Risks of Copper and iron toxicity during aging in humans**. Che Res Toxicol, v. 23, p. 319-26, 2010.

BREWER, G. J. **The risks of copper toxicity contributing to cognitive decline in the aging population and to Alzheimers disease**. J Am Coll Nutr, v. 28, n. 3, p. 238-42, 2009.

CALAMITA, Z., BURINI, R. C. **Alterações imunitárias na cirrose hepática alcoólica**. Arq Gastroenterol. 1995; v.32, p. 79, 1995.

CANTERO, B.B. **Estudio sobre el mecanismo de acción del zincum metalico**. La Homeopatía de México, p.2-14, 1989.

CAROLI, S.; ALIMONTI, A.; FEMMINE, P. D.; PETRICCI, F.; SENOFONTE, O.; VIOLANTE, N.; MENDITTO, A.; MORISI, G.; MENOTTI, A.; FALCONIERI, P.; J. **Anal. At.Spectrom.** 7, 859, 1992.

CASTELLANI, R. J., MOREIRA, P. I., LIU, G., et al. **Iron: the redox active center of oxidative stress in Alzheimer disease**. Neurochem Res. v. 32:1640-1645, 2007.

CERSOSIMO, M .G.; KOLLER, W. C. **The diagnosis of manganese-induced parkinsonism**. Neurotoxicology, v. 27, p. 340-346, 2006.

CHATT, A. E KATZ, S. A.; **Hair Analysis, Applications in the Biomedical and Environmental Sciences**. VCH Publishers, New York, 1988.

COMBS, G. F. **The vitamins: fundamental aspects in nutrition and health**. San Diego: Academic Press. p.295- 404, 1992.

COUZI, F., KEEN, C., GERSHWIN, M. E., MARESHI, J. P. **Nutritional implications of the interactions between minerals**. Progr Food Nutr Scie; v. 17, p.65-87, 1993.

- COZZOLINO, S. M. **Biodisponibilidade de minerais**. R Nutr PUCCAMP; v.10(2), p. 87-98, 1997.
- CRAIG, C. R.; STITZEL, R. E. **Farmacologia Moderna**. 4ª edição, R.J.: Guanabara Koogan S.A. p. 825, 1996.
- CUPPARI, L. **Nutrição clínica no adulto**. Barueri, São Paulo: Manole, p. 406, 2002.
- DICHI, J. B.; BURINI, R. C. **Alterações da defesa antioxidante na hepatopatia alcoólica**. Rev Metab Nutr ;v. 3, p.50, 1996.
- DOBSON, A. W.; ERIKSON, K. M.; ASCHNER, M. **Manganese neurotoxicity**. Annals of the New York Academy of Sciences, v. 1012, p. 115–128, 2004.
- DUTRA-DE-OLIVEIRA, J. E.; MARCHINI, J. S. **Ciências Nutricionais**. São Paulo: Sarvier, p. 403, 2000.
- ESTELA, J.M. e CERDÁ, V. **Flow analysis techniques for phosphorus: an overview**. Talanta, v. 66, p. 307, 2005.
- FABISIAK, J.P.; TYURINA, Y.T.; BORISINK, G.G.; KOROTALVA, A., et al. **Redox regulation of copper metallothionein**. Arch Biochem Biophys.v.1, p.171-181.1999.
- FAVUS, M. J.; GOLTZMAN, D. **Regulation of calcium and Magnesium**. Chapter 21. Am S. Bone Min. Research.2008.
- FEINMAN, L., LIEBER, C. S.; SHILS, M. E., OLSON, J. A, SHIKE, M. **Modern nutrition in health and disease**. Philadelphia: Lea & Febiger; 8.ed. v.2, p.1081, 1994.
- FRANCO, F. **Tabela de Composição de Alimentos**. 9ª ed., Atheneu, São Paulo, 1998.
- FRASSINETTI, S.; BRONZETTI, G.; CALTAVUTURO, L.; CINI, M.; CROCE, C.D. **The role of zinc in life: a review**. J Environ Pathol Oncol, v. 25, n.3, p. 567 – 610, 2006.
- GAETKE, L.M.; CHOW, C.K. **Copper toxicity, oxidative stress, and antioxidant nutrients**.Toxicology.v.189, p.147-163, 2003.
- GOYER, R. A. **Toxic effects of metals. In: the basic science of poisons**. New York: MacGraw-Hill, v.5, p. 301-331, 1996.

HEANEY, R. P. **Calcium Intake and disease Prevention**. Arq Bras Endocrinol Metab. v. 50, p. 685-693, 2006.

HENTZE, M. W.; KUHN, L. C. **Molecular control of vertebrate iron metabolism: mRNA based circuits operated by iron, nitric oxide, and oxidative stress**. Proc. Nall. Acad. Sci. v. 93, p. 8175, 1996.

HOFFBRAND, A. V., PETTIT, J. E., MOSS, P. A. H. **Essential haematology**. Philadelphia: Blackwell Science, 4th ed., 2001.

HUANG, X. **Cu(II) potentiation of Alzheimer abeta neurotoxicity. Correlation with cell-free hydrogen peroxide production and metal reduction**. J. Biol. Chem. v.274, p. 37111–37116, 1999.

KING, J. C.; KEEN, C. L. **Modern nutrition in health and disease**. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilking, 9. ed., cap. 11, p. 223-239, 1999.

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

KING, J.C. **Determinants of maternal zinc status during pregnancy**. Am J Clin Nutr, v.71, p.1334-1343, 2000.

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

KUMAR, V., ABBAS, A. K., **Bases patológicas das doenças**. 7ª ed. Rio de Janeiro: Elsevier; 2006.

LEE, D.W., ANDERSEN, J. K., KAUR, D. **Iron dysregulation and neurodegeneration: the molecular connection**. Mol Interv, v. 6, p.89-97, 2006.

LEITÃO, C. C.G. Tese de doutorado: **Estudo de doenças hematológicas usando a técnica de fluorescência de raio X com radiação sincrotron**. COPPE/UFRJ, 2009.

LIEBER, C. S. **Alcohol, liver and nutrition**. J.Am. College Nutrition, v. 10, p. 602, 1991.

LIMA NETO, B. S.; FRANCO, D. W. **A aguardente e o controle químico de sua qualidade**. Engarrafador Moderno, São Caetano do Sul, v. 4, n. 33, p. 5-8, 1994.

LOGHMAN-ADHAM, M. **Renal and intestinal Pi transport adaptation to low phosphorus diet in uremic rats.** J. Am. Soc. Nephrol., v. 3, p. 1930-1937, 1993.

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

MA, J.; FOLSOM, A.R.; MELNICK, S.L.; ECKFELDT, J.H.; SHARRETT, A.R.; NABULSI, A.A.; HUTCHINSON, R.G.; METCALF, P.A. **Associations of serum and dietary magnesium with cardiovascular disease, hypertension, diabetes, insulin, and carotid arterial wall thickness: The ARIC study.** J Clin epidemiol, v 48, n.7, p. 927-940, 1995.

MA, J.; FOLSOM, A.R.; MELNICK, S.L.; ECKFELDT, J.H.; SHARRETT, A.R.; MAHAN, L. K.; ARLIN, M.T. Krause: **alimentos, nutrição e dietoterapia.** 8ª edição, São Paulo: Roc, 1994.

MAHAM, L. K.; ESCOTT-STUMP, S. **Alimentos, Nutrição & Dietoterapia.** 9.ed. São Paulo: Editora Roca, 1998.

MAIA, A. B. **Fermentação alcoólica semicontínua destinada a produção de aguardente.** Bol. Soc. Bras. Ciênc.Tec. Alim. Campinas. v. 25. n. 1. p. 33-36, 1991.

MARKS, D. B. **Basic medical biochemistry.** 2<sup>nd</sup> ed. Philadelphia: Williams&Williams; 2006.

MARTINEZ-GUIZARRO, F. J.; SORIANO. E.; DEL RIO, J. A.; LOPEZ- GARCIA, C. **Positive boutons in the cerebral cortex of lizards show. Glutamate Immuno Reactivity.** J Neurocytol, v. 20, p. 834-843, 1991.

McDOWELL, L.R. **Minerals in animal and human nutrition.** San Diego: Academic Press, p. 524, 1992.

MEZEY, E. **Interaction between alcohol and nutrition in the pathogenesis of alcoholic liver disease.** Semin Liver Dis. v. 11p. 340, 1991.

MINCIS, M. **Doença Hepática Alcoólica.** In: Mincis M, Editor. Gastroenterologia & Hepatologia 3ª ed. São Paulo: Lemos Editorial; p. 695-716, 2002.

MOLINA, R.M; PHATTANARUDEE, S.; KIM, J.; THOMPSON, K.; WESSLING-RESNICK. M.; MAHER, T.J; BRAIN, J.D. **Ingestion of Mn and Pb by rats during and after pregnancy alters iron metabolism and behavior in offspring.** Neurotoxicology, 2011. doi:10.1016/j.neuro.2011.03.010 .



MORO, A. M. **Quantificação laboratorial de cobre sérico por espectrofotometria Vis comparável à espectrometria de absorção atômica com chama.** J Bras Patol Med Lab, v. 43, n. 4, p. 251-256, 2007.

MORRIS, M. C. **Dietary copper and high saturated and trans fat intakes associated with cognitive decline.** Arch Neurol, v. 63, p. 1085-1088, 2006.

NABULSI, A.A.; HUTCHINSON, R.G.; METCALF, P.A. **Associations of serum and dietary magnesium with cardiovascular disease, hypertension, diabetes, insulin, and carotid arterial wall thickness: The ARIC study.** J Clin epidemiol, v 48, n.7, p. 927-940, 1995.

NALPAS, B.; FEITELSON, M.; BRÉCHOT, C.; RUBIN, E. **Alcohol, hepatotropic viruses, and hepatocellular carcinoma.** Alcohol Clin Exp Res.; v. 19(5), p.1089-1095, 1995.

NELSON, D.L.; COX, M.M. **Lehninger's principles of biochemistry.** 5 ed. Nova Iorque: W. H. Freeman, 2008.

NRC – NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient requirements of dairy cattle.** 7th Ed., National Academy Press: Washington D.C., p.381. 2001.

OLIVEIRA, M. R.A.A. **Princípios da fisiologia. Aspectos clínicos: estudo laboratorial.** 1ª ed. São Paulo, Campus, 1991.

ORTOLANI, E.L. **Macro e microelementos.** Farmacologia aplicada à Medicina Veterinária, p.641-651, 2002.

PASSI, S., GIANNI, G., COCCHI, M. **Oxidative stress in brain: neurodegenerative disease and possible treatment.** Prog Nutr. v. 8, p.241-256, 2006.

PASSWATER, R. A. E CRANTON, E. M. **Trace Elements, Hair Analysis and Nutrition.** Keats Publishing Inc., New Canaan, CT, USA, 1983.

PHILIPPI, S. T. **Nutrição e técnica dietética.** Barueri, São Paulo: Editora Manole, p. 390, 2003.

PORTAL DA SAÚDE. **Como está sua alimentação.** [http://nutricao.saude.gov.br/teste\\_alimentacao.php](http://nutricao.saude.gov.br/teste_alimentacao.php). Acessado em maio de 2010.

POZEBON, D.; DRESSELER, V.L. **Análise de cabelo: uma revisão dos procedimentos para a determinação de elementos traços e aplicações.** Química Nova, v.22, nº 8, p. 838-846, 1999.

PRASAD, A. S. **Zinc deficiency in women, infants and children.** J Am Coll Nutr. v.15, p. 113-120, 1996.

RAMG, H. P.; DALE, M. M.; RITER, J. M. **Farmacologia**. 3ª edição, Ed. Guanabara, 1995.

RAMOS, S. P; BERTOLETE, J. M. **Alcoolismo Hoje**. 2ª edição, Porto Alegre: Artes Médicas, p. 236, 1990.

RAVN-HAREN. **A short term intervention trial with selenate, selenium-enriched yeast and selenium-enriched milk: effects on oxidative defence regulation**. British Journal of Nutrition, v.99, n. 4, p. 883-892, 2008.

ROBBINS, C. R.; **Chemical and Physical Behavior of Human Hair**. 3ª ed. Springer-Verlag, New Iork, 1994.

ROTH, J. A.; HORBINSKI, C.; HIGGINS, D.; LEIN, P.; GARRICK, M. D. **Mechanisms of Manganese-Induced Rat Pheochromocytoma (PC12) Cell Death and Cell Differentiation**. Neurotoxicology, v. 23, p. 147–157, 2002.

SARGENTELLI, V.; MAURO, A. E.; MASSABNI, A. C. **Aspectos do metabolismo do cobre no homem**. QuímicaNova, São Paulo, v. 19, n. 3, p. 290- 293, 1996.

SARIN, S. K., DHINGRA, N., BANSAL, A., MALHOTRA, S., GUPTAN, R. C. **Dietary and nutritional abnormalities in alcoholic liver disease: a comparison with chronic alcoholics without liver disease**. Am J Gastroenterol;92:777, 1997.

SARIS, N.E.L.; MERVAALA, E.; KARPPANEN, KHAWAJA, J.A.; LEWENSTAM, A. **Magnesium. An uptake on physiological, clinical and analytical aspects**. Clin Chin Acta, v.294, p.1-26, 2000.

SHAMBAUGH, G. E. **Zinc and presbycusis**. Am J Otol .v.6, p.116-117, 1985.

SHUTTLEWORTH, V.S. **Zinc – in perspective**. The Brith Homoeop J. v.75, p.69-74, 1986.

SMITH, D. G., CAPPAL, R., BARNHAM, K. J. **The redox chemistry of the Alzheimer's disease amyloid beta peptide**. Biochim Biophys Acta. v. 1768, p. 1976-1990, 2007.

SQUITTI, R **Ceruloplasmin fragmentation is implicated in 'free' copper deregulation of Alzheimer's disease**. Prion, v. 2, n. 1, p. 23-7, 2008.

STEFANIDOU, M.; MARAVELIAS, C.; DONA, A.; SPILIOPOULOU, C. **Zinc: a multipurpose trace elemento**. Arch Toxicol, v. 80, n. 1, p. 1-9, 2006.

SUZUKI, K. T., SOMEYA, A., KOMADA, Y., OGRA, Y. **Roles of metallothionein in copper hemostasis: responses to Cu-deficient diets in mice.** J Inorg Bioch. v.88, p.173-182, 2002.

SWAMINATHAN, R. **Magnesium metabolism and its disorders.** Clin Biochem Rev, v.24, p. 47-66, 2003.

TAKEDA, A. **Manganese action in brain function.** Brain Research. Brain Research Reviews, v. 41, p. 79-87, 2003.

TONG, G.M.; RUDE, R.K. **Magnesium deficiency in critical illness.** J Intensive care Med, v.20, p. 3-17, 2005.

VALK, H.W. **Magnesium in diabetes mellitus.** Net J Med, v.54, p. 139-146, 1999.

VALLEE, B. L.; FALCHUK, K. H. **The biochemical basis of zinc physiology.** Physiology Rev, v.73, p.79-118, 1993.

VAN SOEST, P.J. **Nutritional ecology of the ruminant.** 2<sup>nd</sup>. Ed. Ithaca, New York: Cornell University, Press, p.476, 1994.

VIEIRA, H. D. **Abertura de amostras de cabelo em microondas: determinação de elementos traço.** In: Mostra de iniciação científica da universidade católica de Brasília, 2004.

VIEIRA-NETO O. M e MOYSÉS-NETO M. **Distúrbios do equilíbrio hidroeletrólítico.** Medicina, Ribeirão Preto, v. 36: 325-337, abr./dez. 2003.

WAGGONER, D. J.; BARTNIKAS, T. B.; GITLIN, J. D. **The role of copper in neurodegenerative disease.** Neurobiology of Disease, Washington, v. 6, p. 221- 230, Apr. 1999.

WANG, X.; ZHUANG, Z.; ZHU, E.; YANG, CHENGLONG, WAN, T.; YU, L. **Multielement ICP-AES analysis of hair samples and a chemometric study for cancer diagnosis.** Microchemical Journal, v. 51, p. 5-14, 1995.

WEISS, J.H.; SENSI, S.L.; KOH, J.Y. **Zn<sup>2+</sup>: a novel ionic mediator of neural injury in brain disease.** TIPS,;v. 21, p. 395-401, 2001.

WELLS, I.C. **Evidence that the etiology of the syndrome containing type 2 diabetes mellitus results from abnormal magnesium metabolism.** Can J Physiol Pharmacol, v.86, p. 16-24, 2008.

WELZ, B.; BOZSAI, G.; SPERLING, M.; RADZIUK, B.; J. **Atomic absorption Spectrometry.** New York, 3<sup>a</sup> ed., 1999.

WIJAYANTI, N., KATZ, N. **Biology of heme in health and disease**. Curr Med Chem. v. 11, p. 981-986, 2004.

WOOD, R. J. **Assessment of marginal zinc status in human**. J Nutr., v. 130, p. 1350-1345, 2000. (suppl.)

ZHOU, J.R.; ERDMAN, J.W. Phytic acid in health and disease. Crit Rev Food Sci Nutr; v. 35: 495-508, 1995.

ZIMMERMANN A, ZHAO M, MATTER K, LAISSUE JA. **Differential expression of Cu/Zn and Mn superoxide dismutase in alcoholic liver disease in man: potencial protective role of Mn superoxide dismutase**. J Hepatol 1994;21

YAMAZAKI, R. K. **Redução da glicemia em ratos diabéticos tratados com sais de vanádio peroxidados**. Identificação de proteínas intracelulares envolvidas no mecanismo de ação em músculo. Dissertação de mestrado – Universidade Federal do Paraná, Curitiba. 2004.

## **9. ANEXOS**

### **ANEXO 1- QUESTIONÁRIO A SER APLICADO AOS SUJEITOS DE PESQUISA, GRUPO CONTROLE E GRUPO PESQUISADO (PORTAL DA SAÚDE)**

1- Idade \_\_\_\_\_

2- Desde quando o senhor(a) bebe cachaça? \_\_\_\_\_

3- O(A) senhor(a) bebe outro tipo de bebida? Qual?

4- O(A) que levou o(a) senhor(a) a beber a cachaça?

5- Quantas vezes na semana o(a) senhor(a) bebe?

7- Quantas doses ao dia o(a) senhor(a) bebe? De que tamanho é essa dose?

8- O senhor tem queda de cabelo?

9- O senhor dorme bem? Ou seja, o senhor consegue “mergulhar” no sono ou quando o o(a) senhor(a) dorme parece que seu cérebro continua trabalhando?

10- As suas unhas apresentam manchas brancas? Levou alguma pancada nas unhas que tiveram as manchas brancas?

11- Nesse momento o pesquisador deverá observar os cabelos dos sujeitos de pesquisa. Se estiver com cabelos brancos ou amarelados e finos, perguntar: Desde quando o(a) senhor(a) tem cabelos brancos? Ou então, perguntar: Desde quando os seus cabelos ficaram com essa tonalidade amarelada?

12- O(A) senhor(a) se considera uma pessoa triste? E antes de começar a beber, o(a) senhor(a) era uma pessoa triste?

13- O(A) senhor(a) tem algum problema no coração?

14- O(A) senhor(a) sente fraqueza?

15- O(A) senhor(a) tem uma respiração cansada?

16- O(A) senhor(a) fica irritado facilmente?

17- O(A) senhor(a) tem muita raiva?

18- O(A) senhor(a) se sente deprimido?

19- O(A) senhor(a) tem feridas no corpo difícil de cicatrizar?

## **ANEXO 2 - TESTE: COMO ESTÁ A SUA ALIMENTAÇÃO?**

Se você achar que mais de uma resposta está certa, escolha a que você mais costuma fazer quando come. Lembre-se: responda o que você realmente come, e não o que gostaria ou acha que seria melhor. Se você tiver alguma dificuldade para responder, peça ajuda a alguém próximo da família, amigo ou vizinho. Escolha só UMA resposta. Vamos começar!

### **1 – Qual é, em média, a quantidade de frutas (unidade/fatia/pedaço/copo de suco natural) que você come por dia?**

- a. ☐ Não como frutas, nem tomo suco de frutas natural todos os dias
- b. ☐ 3 ou mais unidades/fatias/pedaços/copos de suco natural
- c. ☐ 2 unidades/fatias/pedaços/copos de suco natural
- d. ☐ 1 unidade/fatia/pedaço/copo de suco natural

### **2 – Qual é, em média, a quantidade de legumes e verduras que você come por dia?**

**Atenção!** Não considere nesse grupo mandioca/macaxeira/aipim, cará ou inhame e as raízes (veja pergunta 4).

- a. ☐ Não como legumes, nem verduras todos os dias
- b. ☐ 3 ou menos colheres de sopa
- c. ☐ 4 a 5 colheres de sopa
- d. ☐ 6 a 7 colheres de sopa
- e. ☐ 8 ou mais colheres de sopa

### **3 – Qual é, em média, a quantidade que você come dos seguintes alimentos: feijão de qualquer tipo ou cor, lentilha, ervilha, grão-de-bico, soja, fava, sementes ou castanhas?**

- a. ☐ Não consumo
- b. ☐ 2 ou mais colheres de sopa por dia
- c. ☐ Consumo menos de 5 vezes por semana
- d. ☐ 1 colher de sopa ou menos por dia

### **4 – Qual a quantidade, em média, que você consome por dia dos alimentos listados abaixo?**

a. Arroz, milho e outros cereais (inclusive os matinais); mandioca/macaxeira/aipim, cará ou inhame; macarrão e outras massas; batata-inglesa, batata-doce, batata-baroa ou mandioquinha: colheres de sopa

b. Pães: unidades/fatias

c. Bolos sem cobertura e/ou recheio: fatias

d. Biscoito ou bolacha sem recheio: unidades

Para saber o número de porções consumidas, divida essas quantidades pelo equivalente a 1 porção, conforme o exemplo:

**Número de porções consumidas= quantidade que você consome/ equivalente a 1 porção**

	Quantidade que você consome	Equivalente a 1 porção	Número de porções consumidas
<b>A</b>	9 colheres de sopa	3 colheres de sopa	$9 \div 3 = 3$
<b>B</b>	4 fatias	1 unidade/2 fatias	$4 \div 2 = 2$
<b>C</b>	0 fatia	1 fatia	$0 \div 1 = 0$
<b>D</b>	6 unidades	6 unidades	$6 \div 6 = 1$

**Cálculo:**

SOMA DAS PORÇÕES CONSUMIDAS = **3+2+0+1= 6** porções

Seu cálculo:

	Quantidade que você consome	Equivalente a 1 porção	Número de porções consumidas
<b>A</b>	colheres de sopa	3 colheres de sopa	
<b>B</b>	Fatias	1 unidade/2 fatias	
<b>C</b>	Fatia	1 fatia	
<b>D</b>	Unidades	6 unidades	

SOMA DAS PORÇÕES CONSUMIDAS = **a+b+c+d=** porções

**5 – Qual é, em média, a quantidade de carnes (gado, porco, aves, peixes e outras) ou ovos que você come por dia?**

a. ( ) Não consumo nenhum tipo de carne

b. ( ) 1 pedaço/fatia/colher de sopa ou 1 ovo

- c. ☐ 2 pedaços/fatias/colheres de sopa ou 2 ovos
- d. ☐ Mais de 2 pedaços/fatias/colheres de sopa ou mais de 2 ovos

**6 – Você costuma tirar a gordura aparente das carnes, a pele do frango ou outro tipo de ave?**

- a. ☐ Sim
- b. ☐ Não
- c. ☐ Não como carne vermelha ou frango

**7 – Você costuma comer peixes com qual frequência?**

- a. ☐ Não consumo
- b. ☐ Somente algumas vezes no ano
- c. ☐ 2 ou mais vezes por semana
- d. ☐ De 1 a 4 vezes por mês

**8 – Qual é, em média, a quantidade de leite e seus derivados (iogurtes, bebidas lácteas, coalhada, requeijão, queijos e outros) que você come por dia?**

Pense na quantidade usual que você consome: pedaço, fatia ou porções em colheres de sopa ou copo grande (tamanho do copo de requeijão) ou xícara grande, quando for o caso.

- a. ☐ Não consumo leite, nem derivados (vá para a questão 10)
- b. ☐ 3 ou mais copos de leite ou pedaços/fatias/porções
- c. ☐ 2 copos de leite ou pedaços/fatias/porções
- d. ☐ 1 ou menos copos de leite ou pedaços/fatias/porções

**9 – Que tipo de leite e seus derivados você habitualmente consome?**

- a. ☐ Integral
- b. ☐ Com baixo teor de gorduras (semidesnatado, desnatado ou light)

**10 – Pense nos seguintes alimentos: frituras, salgadinhos fritos ou em pacotes, carnes salgadas, hambúrgueres, presuntos e embutidos (salsicha, mortadela, salame, lingüiça e outros). Você costuma comer qualquer um deles com que frequência?**

- a. ☐ Raramente ou nunca
- b. ☐ Todos os dias
- c. ☐ De 2 a 3 vezes por semana
- d. ☐ De 4 a 5 vezes por semana
- e. ☐ Menos que 2 vezes por semana



**11 – Pense nos seguintes alimentos: doces de qualquer tipo, bolos recheados com cobertura, biscoitos doces, refrigerantes e sucos industrializados. Você costuma comer qualquer um deles com que frequência?**

- a. ☐ Raramente ou nunca
- b. ☐ Menos que 2 vezes por semana
- c. ☐ De 2 a 3 vezes por semana
- d. ☐ De 4 a 5 vezes por semana
- e. ☐ Todos os dias

**12 – Qual tipo de gordura é mais usado na sua casa para cozinhar os alimentos?**

- a. ☐ Banha animal ou manteiga
- b. ☐ Óleo vegetal como: soja, girassol, milho, algodão ou canola
- c. ☐ Margarina ou gordura vegetal

**13 – Você costuma colocar mais sal nos alimentos quando já servidos em seu prato?**

- a. ☐ Sim
- b. ☐ Não

**14 – Pense na sua rotina semanal: quais as refeições você costuma fazer habitualmente no dia?**

Assinale no quadro abaixo as suas opções. Cada item vale um ponto, a pontuação final será a soma deles.

Não (0)	sim ( 1 )
Café da manhã	
Lanche da manhã	
Almoço	
Lanche ou café da tarde	
Jantar ou café da noite	
Lanche antes de dormir	
Pontuação	

**15 – Quantos copos de água você bebe por dia? Inclua no seu cálculo sucos de frutas naturais ou chás (exceto café, chá preto e chá mate).**

- a. ☐ Menos de 4 copos
- b. ☐ 8 copos ou mais

- c. ( ) 4 a 5 copos
- d. ( ) 6 a 8 copos

**16 – Você costuma consumir bebidas alcoólicas (uísque, cachaça, vinho, cerveja, conhaque etc.) com qual frequência?**

- a. ( ) Diariamente
- b. ( ) 1 a 6 vezes na semana
- c. ( ) Eventualmente ou raramente (menos de 4 vezes ao mês)
- d. ( ) Não consumo

**17 – Você faz atividade física REGULAR, isto é, pelo menos 30 minutos por dia, todos os dias da semana, durante o seu tempo livre?**

Considere aqui as atividades da sua rotina diária como o deslocamento a pé ou de bicicleta para o trabalho, subir escadas, atividades domésticas, atividades de lazer ativo e atividades praticadas em academias e clubes. Os 30 minutos podem ser divididos em 3 etapas de 10 minutos.

- a. ( ) Não
- b. ( ) Sim
- c. ( ) 2 a 4 vezes por semana

**18 – Você costuma ler a informação nutricional que está presente no rótulo de alimentos industrializados antes de comprá-los?**

- a. ( ) Nunca
- b. ( ) Quase nunca
- c. ( ) Algumas vezes, para alguns produtos
- d. ( ) Sempre ou quase sempre, para todos os produtos

**Agora volte às suas respostas  
e some sua pontuação:**

**1 – a) 0; b) 3; c) 2; d) 1.**

**2 – a) 0; b) 1; c) 2; d) 3; e) 4**

**3 – a) 0; b) 3; c) 1; d) 2**

<b>Soma das porções</b>	<b>Pontuação final</b>
0	0
< 3	1
3 – 4,4	2
4,5 – 7,5	3

> 7,5	4
-------	---

5 – a) 1; b) 2; c) 3; d) 0

6 – a) 3; b) 0; c) 2

7 – a) 0; b) 1; c) 3; d) 2

8 – a) 0; b) 3; c) 2; d) 1

9 – a) 1; b) 3 ;

10 – a) 4; b) 0; c) 2; d) 1; e) 3

11 – a) 4; b) 3; c) 2; d) 1; e) 0;

12 – a) 0; b) 3; c) 0

13 – a) 0; b) 3.

14 -Soma das porções	Pontuação Final
<3	0
3-4	2
5-6	3

15 – a) 0 b) 3 c) 1 d) 2

16 – a) 0 b) 1 c) 2 d) 3

17 – a) 0 b) 3 c) 2

18 – a) 0 b) 1 c) 2 d) 3

SOMA TOTAL DOS PONTOS: \_\_\_\_\_.

## RESPOSTAS:

### • Até 28 pontos:

Você precisa tornar sua alimentação e seus hábitos de vida mais saudáveis! Dê mais atenção à alimentação e atividade física. Verifique os 10 Passos para uma Alimentação Saudável e adote-os no seu dia-a-dia. Para iniciar, escolha aquele que lhe pareça mais fácil, interessante ou desafiador e procure segui-lo todos os dias.

### • 29 a 42 pontos:

Fique atento com sua alimentação e outros hábitos como atividade física e consumo de líquidos. Verifique nos 10 Passos para uma Alimentação Saudável qual(is) deles não faz(em) parte do seu dia-a-dia, adote-o(s) na sua rotina!

### • 43 pontos ou mais:

Parabéns! Você está no caminho para o modo de vida saudável. Mantenha um dia-a-dia ativo e verifique os 10 Passos para uma Alimentação Saudável. Se identificar algum que não faz parte da sua rotina, adote-o.

### **ANEXO 3 – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO**

O(A) senhor(a) está sendo convidado (a) para participar da pesquisa intitulada “Influência dos aditivos na saúde do ser humano”, sob a responsabilidade dos pesquisadores Profa. Dra. Sandra Terezinha de Farias Furtado, Profa. Dra. Dáurea Abadia de Souza, Prof. Dr. Luiz Carlos Marques de Oliveira, Profa. Dra. Nívia Maria Melo Coelho, Dra. Grazielle Benedetti e Heliane Sousa. Nesta pesquisa nós estamos buscando entender como o cobre que o(a) senhor(a) bebe na cachaça está ajudando ou atrapalhando a sua saúde. O Termo de Consentimento Livre e Esclarecido será obtido pela aluna de mestrado Heliane Sousa, acompanhada por pelo menos um dos professores Profa. Dra. Sandra Terezinha de Farias Furtado, Profa. Dra. Dáurea Abadia de Souza, Dra. Grazielle Benedetti e Prof. Dr. Luiz Carlos Marques de Oliveira. A presença deles é para orientá-lo e tirar todas as dúvidas que o(a) senhor(a) tiver com respeito a essa pesquisa. Na sua participação nessa pesquisa, o(a) senhor(a) responderá a algumas perguntas que nós vamos ler para o(a) senhor(a) e nós vamos anotar as suas respostas. O(A) senhor(a) também participará da pesquisa nos doando seus pelos púbicos e 5 mL (1 colher de sopa) de seu sangue. Os pelos doados tem que ser os pelos púbicos porque o cabelo da cabeça pode estar contaminado com shampoo ou com o ar. Para a coleta dos pelos o(a) senhor(a) mesmo fará o corte num recinto reservado só para o(a) senhor(a). O sangue que será coletado do senhor será para outros exames e nós vamos aproveitar um pouco dele para essa pesquisa. Caso não seja retirado o sangue do(a) senhor(a) para os exames de rotina, estamos pedindo permissão do(a) senhor(a) para a coleta de 5 mL (1 colher de sopa) de seu sangue só para a pesquisa. Em nenhum momento o(a) senhor(a) será identificado. Os resultados da pesquisa serão publicados e ainda assim a sua identidade será preservada. O(A) senhor(a) não terá nenhum gasto e ganho financeiro por participar na pesquisa. Os riscos são apenas o constrangimento da doação dos pelos, mas o(a) senhor(a) mesmo fará a coleta num local reservado para isso. Na coleta do sangue o(a) senhor(a) também sofrerá o desconforto da picada da agulha, mas nada diferente do que o(a) senhor(a) sentiu até o momento, em coleta de sangue. Os benefícios serão um melhor entendimento do seu quadro de minerais no seu corpo. Caso seja detectado um descontrole dos minerais, o senhor receberá a orientação da Dra. Dáurea Abadia de Souza e do Dr. César Santiago sobre como melhorar a sua alimentação para suprir as suas necessidades de minerais e vitaminas. Acreditamos que

com essa pesquisa, caso os resultados obtidos sejam aqueles que nós esperamos, o(a) senhor(a) poderá melhorar o seu sono e o seu bem estar geral.

O(A) senhor(a) é livre para deixar de participar da pesquisa a qualquer momento sem nenhum prejuízo para o(a) senhor(a). Uma cópia deste Termo de Consentimento Livre e Esclarecido ficará com o(a) senhor(a). Qualquer dúvida a respeito da pesquisa, o(a) senhor(a) poderá entrar em contato com: **Profa. Dra. Sandra Terezinha de Farias Furtado, no telefone 34-3239-4131**. Poderá também entrar em contato com o Comitê de Ética na Pesquisa com Seres-Humanos – Universidade Federal de Uberlândia: Av. João Naves de Ávila, nº 2121, bloco J, Campus Santa Mônica – Uberlândia –MG, CEP: 38408-100; fone: 34-32394131.

Uberlândia, ..... de ..... de 2011.....

---

Assinatura dos pesquisadores

Eu aceito participar do projeto citado acima, voluntariamente, após ter sido devidamente esclarecido.

---

Participante da pesquisa