**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO
DEPARTAMENTO DE PUERICULTURA E PEDIATRIA
PÓS GRADUAÇÃO EM SAÚDE DA CRIANÇA E DO ADOLESCENTE**

CAROLINA DE ALMEIDA COELHO

**Perfil metabólico e do estado nutricional de crianças e
adolescentes de escolas da cidade de Ribeirão Preto, São
Paulo, Brasil**

**Ribeirão Preto - SP
2014**

CAROLINA DE ALMEIDA COELHO

**Perfil metabólico e do estado nutricional de crianças e adolescentes de escolas da
cidade de Ribeirão Preto, São Paulo, Brasil**

**Dissertação de Mestrado apresentada a
Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da
Universidade de São Paulo para obtenção do
Título de Mestre em Saúde da Criança e do
Adolescente**

**Prgrama de Pós Graduação: Saúde da
Criança e do Adolescente**

**Orientadora: Profa. Dra. Jacqueline Pontes
Monteiro**

**Ribeirão Preto - SP
2014**

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

Coelho, Carolina de Almeida

Perfil metabólico e do estado nutricional de crianças e adolescentes de escolas da cidade de Ribeirão Preto, São Paulo, Brasil. Ribeirão Preto, 2014.

113 p. : il. ; 30 cm

Dissertação de Mestrado, apresentada à Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto/USP. Área de concentração: Saúde da Criança e do Adolescente.

Orientador: Monteiro, Jacqueline Pontes.

1. Nutrigenômica. 2. Crianças. 3. Adolescentes. 4. Metabolismo. 5. Cluster. 6. Nutrição.

Nome: Coelho, Carolina de Almeida

Título: Perfil metabólico e do estado nutricional de crianças e adolescentes de escolas da cidade de Ribeirão Preto, São Paulo, Brasil

**Dissertação apresentada a Faculdade de
Medicina de Ribeirão Preto da Universidade
de São Paulo para obtenção do Título de
Mestre**

Aprovada em: /   /

Banca Examinadora:

Prof. Dr.: _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr.: _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr.: _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho aos meus pais, Alípio e Sandra, e à minha irmã, Jéssica, com todo o meu amor e gratidão por sua compreensão, por seu incentivo, por sua presença e por seu incansável apoio ao longo do período de meu mestrado.

Dedico também ao meu namorado, Gabriel, pela paciência, pelo carinho e pela força que me encorajaram a prosseguir.

AGRADECIMENTOS

Agradeço à Profa. Dra. Jacqueline, por tudo o que tem me ensinado nos anos de convivência e por toda a sua contribuição para o meu crescimento pessoal, científico e intelectual.

As minhas amigas e colegas de trabalho, Mariana, Maria Olímpia, Roberta e Roseli, por toda colaboração e esforço conjunto para que o tão esperado projeto se realizasse.

As alunas de pós-graduação (Thalia, Mariana e Vicky), as alunas de graduação, aos profissionais responsáveis pela coleta do sangue, aos médicos que fizeram plantão durante a coleta de dados, aos motoristas dos ônibus que buscavam os participantes, aos profissionais que ajudaram nas dosagens laboratoriais, aos que ajudaram na limpeza e organização geral do local da pesquisa, e a todos que, de alguma forma, contribuíram para a coleta de dados fosse um sucesso.

Ao Dr. Jim Kaput, por toda atenção, ajuda e disposição durante este processo.

As secretárias do Departamento de Puericultura e Pediatria, que prontamente sanavam minhas dúvidas.

Ao Departamento de Puericultura e Pediatria, à Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (FMRP-USP) e ao Hospital das Clínicas de Ribeirão Preto, pela oportunidade de realização do curso de mestrado.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão de minha bolsa de mestrado.

A Nestlé Institute of Health Science pela parceria.

A Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pelo apoio financeiro para a realização desta pesquisa.

A Fundação de Apoio ao Ensino, Pesquisa e Assistência do Hospital das Clínicas de Ribeirão Preto (FAEPA) pela ajuda financeira na minha participação em eventos científicos.

RESUMO

Coelho, C. A. **Perfil metabólico e do estado nutricional de crianças e adolescentes de escolas da cidade de Ribeirão Preto, São Paulo, Brasil.** 2013. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Brasil, 2013.

Introdução: Poucos trabalhos correlacionam o perfil metabólico com o estado nutricional em crianças e adolescentes após intervenção dietética.

Objetivos: Identificar, em uma população de indivíduos de 9 a 13 anos submetidos a uma intervenção nutricional, a existência de diferentes grupos metabólicos formados com base em dados bioquímicos (níveis de glicemia, colesterol total, triglicérides, VLDL colesterol, LDL colesterol e HDL colesterol) coletados em 3 momentos do estudo; e descrever a evolução longitudinal do perfil nutricional e metabólico destes grupos.

Metodologia: Estudo clínico de intervenção auto-controlado, baseado na medida do perfil bioquímico (níveis de glicemia, colesterol total, triglicérides, VLDL colesterol, LDL colesterol e HDL colesterol) e do estado nutricional (antropometria, composição corporal e dados de ingestão alimentar) em três momentos: no início do estudo (antes de ser iniciada a intervenção), após seis semanas de suplementação de vitaminas e minerais e após outras seis semanas sem essa intervenção, para avaliar como um indivíduo, de 9 a 13 anos de idade responde à suplementação de múltiplos micronutrientes. O nível de atividade física praticado por esses indivíduos foi avaliado através do aparelho Bodybugg®.

Resultados: Cento e trinta e seis indivíduos foram estudados até o terceiro momento do estudo. 43,4% eram do sexo masculino e 56,6% eram do sexo feminino. A média de idade foi de $11,39 \pm 1,10$ anos. A maioria dos participantes pertenciam ao estadiamento puberal 2 (43,4%) e 3 (35,3%). Em relação à classificação econômica dos participantes, a maioria pertencia à categoria B2 (38,2%) e C1 (26,5%). Do total da amostra estudada, no momento 1, 4,4% dos participantes apresentaram magreza grave; 5,9% apresentaram magreza, 41,9% estavam com o peso adequado, 22,8% tinham sobrepeso e 25% tinham obesidade. No momento 2, 3,7% dos participantes apresentaram magreza grave, 7,4% apresentavam magreza, 42,6% tinham o peso adequado, 22,1% tinham sobrepeso e 24,3% tinham obesidade e no momento 3, 3,7% dos participantes apresentaram magreza grave, 6,6% apresentavam magreza, 41,2% tinham o peso adequado, 22,8% tinham sobrepeso e 25,7% tinham obesidade. Em média encontramos: 3,7% dos participantes com magreza grave,

5,9% com magreza, 41,9% com peso adequado, 24,3% com sobrepeso e 24,3% com obesidade.

Os participantes foram agrupados (clusterizados) utilizando-se como critério seu perfil metabólico (níveis de glicemia, colesterol total, triglicérides, VLDL colesterol, LDL colesterol e HDL colesterol) nos três momentos do estudo, por meio da técnica estatística K-cluster. O cluster 1 (n = 111) era composto por mais indivíduos do sexo feminino que o cluster 2 (n = 25) (p = 0,006) e apresentou melhor perfil metabólico (melhores valores para o perfil lipídico e de glicemia). Os indivíduos do cluster 1 também apresentaram menor peso, índice de massa corporal (IMC), circunferência da cintura (CC) e massa gorda (% peso) quando comparado aos participantes do cluster 2. A massa corporal magra (% peso) e a água corporal total (% peso) foram estatisticamente maiores nos participantes do cluster 1. A análise da ingestão habitual (por questionário de frequência alimentar - QFA) mostrou que os participantes do cluster 1 estavam ingerindo mais vitamina B2 e vitamina B6 quando comparados aos participantes do cluster 2 (p < 0.05). Houve menores valores para proteína C-reativa (PCR) e maiores valores para ferro sérico no cluster 1. A capacidade latente de ligação de ferro (UIBC) e leucócitos foram estatisticamente maiores no cluster 2. Não houve diferença entre o nível de atividade física praticado pelos dois clusters, ambos desempenhavam atividade física leve.

A análise longitudinal mostrou que houve aumento de estatura e peso nos clusters 1 e 2. A avaliação longitudinal da ingestão habitual (QFA) no cluster 1 mostra redução da ingestão de energia, carboidrato, proteína e lipídio do momento 1 (M1) para momento 2 (M2) e momento 3 (M3). A suplementação de vitaminas mostrou resultados estatísticos significativos, consistentes com suplementação e *wash out* para a maioria das vitaminas e minerais nos clusters 1 e 2. A análise longitudinal (corrigindo para as variáveis idade, gênero, estadiamento puberal e ingestão de energia, carboidrato e lipídio) no cluster 1 mostrou que o colesterol total e a LDL diminuíram ao longo do estudo; a glicemia diminuiu do momento 1 para o momento 2, porém PCR aumentou no momento 2; ferro sérico e hemoglobina diminuíram no momento 2 e aumentaram no momento 3. No cluster 2, o colesterol total e o LDL diminuíram ao longo do estudo; a PCR aumentou ao longo do estudo, ferro sérico diminuiu do momento 1 para o momento 2.

Conclusões: Foram encontrados dois grupos metabólicos opostos. Os indivíduos podem responder de forma diferente a uma mesma intervenção e é possível que a suplementação de múltiplos micronutrientes tenha um papel na melhora do perfil glicídico e lipídico de alguns sujeitos do estudo. Estudos de genotipagem e proteômica poderão reforçar esta hipótese e ajudar a entender como o sistema biológico de crianças e adolescentes interage para culminar em uma resposta frente a uma intervenção.

ABSTRACT

Coelho, C. A. **Metabolic profile and nutritional status of children and adolescents from schools in the city of Ribeirão Preto, São Paulo, Brazil, 2013** . Dissertation (Master) - Faculty of Medicine of Ribeirão Preto, University of São Paulo, Brazil, 2013 .

Introduction: Few studies have correlated metabolic profile and nutritional status in children and adolescents after dietary intervention .

Objectives: To identify the existence of different metabolic groups formed by individuals 9-13 years undergoing nutritional intervention through biochemical data (glucose levels, total cholesterol, triglycerides, VLDL cholesterol, LDL cholesterol and HDL cholesterol) collected in three stages of the study, and to describe the longitudinal evolution of the nutritional and metabolic profile in these groups.

Methodology: Clinical intervention self-controlled study, based on measuring the biochemical profile (glucose levels, total cholesterol, triglycerides, VLDL cholesterol, LDL cholesterol and HDL cholesterol) and nutritional status (anthropometry, body composition and dietary intake data) at three times: at baseline (before the intervention started), after six weeks of supplementation of vitamins and minerals and after more six weeks without this intervention, to assess how an individual, 9-13 years old answered the multiple micronutrient supplementation. Physical activity level was also assessed through a tool called bodybugg®.

Results: One hundred and thirty six subjects were studied until the third moment of the data collection. 43.4% were male and 56.6% were female. The average age was 11.39 ± 1.10 years. Most participants belonged to pubertal stage 2 (43.4%) and 3 (35.3%). Regarding the economic status of the participants, the majority belonged to the category B2 (38.2%) and C1 (26.5%). Of the total sample, at moment 1, 4.4% of participants had severe underweight, 5.9% were underweight, 41.9% were with the proper weight, 22.8% were overweight and 25% were obese. At the moment 2, 3.7% of participants had severe underweight, 7.4% were underweight, 42.6% had normal weight, 22.1% were overweight and 24.3% were obese. And at the moment 3, 3.7% of participants had severe thinness, 6.6% were underweight, 41.2% had normal weight, 22.8% were overweight and 25.7% were obese. On average we found: 3.7% of participants with severe thinness, 5.9% with malnutrition, 41.9% with adequate weight, 24.3% overweight and 24.3% obese.

The clustering of the participants used as criteria the metabolic profile (glucose levels, total cholesterol, triglycerides, VLDL cholesterol, LDL cholesterol and HDL cholesterol) of the

three stages of the study through the statistical approach K - cluster. Cluster 1 (n = 111) had a higher proportion of females when compared to cluster 2 (n = 25) (p = 0.006) and better metabolic profile (lipid and glycemia). Participants who had better metabolic profile (cluster 1) showed lower weight, body mass index (BMI), waist circumference (WC) and fat mass (weight %) when compared to participants in cluster 2. Lean body mass (weight %) and total body water (% weight) were statistically higher in participants in cluster 1. The analysis of the habitual intake (food frequency questionnaire - FFQ) showed that participants in cluster 1 were had higher intake of vitamin B2 and vitamin B6 when compared to cluster 2 (p < 0,05). Cluster 1 also showed higher values C - reactive protein (CRP) and higher levels of iron. The latent capacity for iron binding (UIBC) and leukocytes were higher in cluster 2. There was no difference between the level of physical activity practiced by clusters 1 and 2, both had light physical activity.

Longitudinal analysis showed that there was an increase in height and weight in clusters 1 and 2. A longitudinal assessment of usual intake (FFQ) in cluster 1 showed reduced intake of energy, carbohydrate, protein and lipid from moment 1 (M1) to moment 2 (M2) and moment 3 (M3). Supplementation with vitamins showed significant statistical results, consistent with supplementation and washout for most vitamins and minerals in clusters 1 and 2. A longitudinal analysis (correcting for age, gender, pubertal stage, and energy intake, carbohydrate and lipid) in cluster 1 showed that total cholesterol and LDL decreased throughout the study, blood glucose decreased from time 1 to time 2, but CRP increased in moment 2; hemoglobin and serum iron decreased from 1 to 2 and from 1 to 3. In cluster 2, total cholesterol and LDL decreased throughout the study, CRP increased throughout the study, serum iron decreased from time 1 to time 2.

Conclusions: We found two reverse metabolic groups. Individuals may respond differently to the same intervention, and it is possible that multiple micronutrient supplementation has a role in improving glycemia and lipid profile of some subjects. Genotyping and proteomics studies may reinforce this hypothesis and help understand how the biological system of children and adolescents interact to culminate in a response against an intervention.

SUMÁRIO

Introdução	Pág. 13
Objetivos	Pág. 19
Metodologia e Casuística	Pág. 20
Modelo do Estudo	Pág. 20
Seleção dos Participantes	Pág. 20
Aprovação do Comitê de Ética	Pág. 21
CrITÉrios de Inclusão	Pág. 21
CrITÉrios de Exclusão	Pág. 21
IndivÍduos Estudados	Pág. 21
Delineamento do Estudo	Pág. 22
Suplementação Nutricional	Pág. 22
Coleta de Dados	Pág. 23
Antropometria e Avaliação da Composição Corporal	Pág. 24
Peso, Estatura e IMC	Pág. 24
Circunferência de Cintura	Pág. 24
Composição Corporal	Pág. 24
Análise da Ingestão Alimentar Habitual	Pág. 25
Procedimentos ClÍnicos e Testes Laboratoriais	Pág. 26
Dosagens Laboratoriais	Pág. 26
Avaliação da Atividade Física	Pág. 28
Técnica Proposta para Identificar Grupos Metabólicos (Clusters)	Pág. 29
Análise Estatística	Pág. 30
Resultados	Pág. 32
Discussão	Pág. 47
Limitações do Estudo	Pág. 61
Conclusões	Pág. 62
Referências	Pág. 63
Anexos	Pág. 80

INTRODUÇÃO

O excesso de peso na infância tornou-se epidêmico. Sua prevalência e gravidade têm aumentado desde 1980 e atualmente cerca de 155 milhões de crianças no mundo têm sobrepeso ou obesidade (Lobstein et al, 2004; Haslam; James, 2005). No Brasil, durante período de 1975 a 2009, a incidência de excesso de peso em crianças de 5 a 9 anos aumentou de 10,9% para 34,8% nos meninos e de 8,6% para 32% nas meninas. Nos adolescentes, elevou-se de 3,7% para 21,7% no sexo masculino e de 7,6% para 19,4% no sexo feminino (IBGE, 2010). Ainda assim, modelos preditivos sugerem que a proporção mundial de crianças obesas para crianças magras continuará a crescer no futuro (Pulgarón, 2013; Wang & Lobstein, 2006). Tal situação representa um dos problemas de saúde mais desafiadores do nosso século, pois se associa com posterior morbidade e mortalidade (Galata et al, 2011; Reilly & Kelly, 2011).

Diversos trabalhos mostram que a presença de obesidade na infância e adolescência se correlaciona, na vida adulta, com excesso de peso e com desenvolvimento de fatores de risco cardiovasculares – como hipertensão, diabetes, dislipidemia e síndrome metabólica, todos esses apresentando forte associação com o índice de massa corporal (IMC) dos indivíduos (Herouvi, 2013; Beauloye et al, 2007; Skilton & Celermajer, 2006; Chiolero et al, 2007).

A síndrome metabólica é descrita como uma combinação de dislipidemia aterogênica, pressão arterial elevada, adiposidade central, homeostase desregulada da glicose e/ou resistência à insulina (Kassi et al, 2011; Steinberger et al, 2009; Harrabi et al, 2008). A obesidade em crianças e adolescentes é um componente-chave para o desenvolvimento dessa síndrome, posto que o excesso de peso associa-se ao aumento da glicose em jejum, da insulina em jejum, dos triglicerídeos e da pressão arterial sistólica, além de propiciar também diminuição de HDL-colesterol e aumento na prevalência da intolerância à glicose (Alberti, Zimmet & Shaw, 2006; Taylor et al, 2010; Weiss & Kaufman, 2008).

Há evidências substanciais sobre o valor preditivo da síndrome metabólica na infância e o aumento do risco de síndrome metabólica, diabetes tipo 2 e diversos tipos de doença cardiovascular na idade adulta (Magnussen et al, 2010). Os estudos mostram que quanto mais tempo o indivíduo é exposto ao excesso de peso, piores são as conseqüências, sendo que quando a obesidade ocorre em indivíduos mais jovens parece representar mais risco de mortalidade do que quando ocorre em indivíduos mais velhos (von Haehling et al, 2006). Tal realidade apresenta sérias implicações para os sistemas de saúde em todo o mundo, tornando-se um grande desafio para a saúde pública (Weiss, 2011; Chen et al, 2005; Schubert et al, 2009; Morrison et al, 2008).

Apesar de ainda não ser uma doença muito comum em pediatria, o diabetes tipo 2 em crianças e adolescentes também vem aumentando sua prevalência mundial como resultado do aumento da obesidade nesta faixa etária (Tieh & Dreimane, 2013). Tal patologia tem emergido em idades mais jovens do que anteriormente era observado, sendo frequentemente acompanhada de dislipidemia e caracterizada por resistência à insulina. Estudos mostram que atualmente os indivíduos afetados têm apresentado defeitos mais acentuados nas ilhotas pancreáticas e uma rápida progressão para a dependência de insulina (Copeland et al, 2011).

A obesidade leva também a um aumento da exigência metabólica, devido ao aumento do tecido adiposo, da massa magra, do volume de sangue e, conseqüentemente, do aumento do pré-carregamento para o coração (Alpert, 2001). Doenças cardíacas relacionadas à obesidade estão se tornando cada vez mais prevalentes em crianças e jovens, sendo importante ressaltar que as pesquisas da última década demonstram que tais indivíduos podem apresentar sinais precoces de disfunção cardiovascular independente de apresentarem outras comorbidades relacionadas à obesidade, e há evidências clínicas sugerindo que o dano cardiovascular, antes apenas observado em adultos, está ocorrendo também em crianças e adolescentes obesos (Cote et al, 2013).

A literatura, aliás, já tem demonstrado anormalidades vasculares em crianças e jovens, apontando a disfunção endotelial como uma etapa determinante para que o processo de aterogênese se inicie (Lakka et al. 2001). Infelizmente, a magnitude do risco cardiovascular tem aumentado com o crescimento da prevalência da obesidade nesta faixa etária. O excesso de massa gorda, resultado do desequilíbrio entre a energia ingerida e a energia gasta, também provoca alterações estruturais e metabólicas que desencadeiam disfunção nos adipócitos, com importantes conseqüências cardiovasculares (Canas et al, 2013). Estudos com seguimento longitudinal mostram que esse problema tende a acompanhar os indivíduos afetados ao longo dos anos (Herouvi, 2013).

Sabe-se que a doença cardiovascular é a maior causa de morbimortalidade, tanto em países em desenvolvimento quanto nos desenvolvidos (Fuenmayor et al, 2013). Vários são os seus fatores de risco, mas a dislipidemia se destaca como o maior fator de impacto no desenvolvimento da doença aterosclerótica, em particular a presença de concentrações aumentadas de lipoproteína de baixa densidade (LDL colesterol) (Sposito et al, 2007). O aumento da prevalência de obesidade na infância e na adolescência também contribui para este fenótipo (Fuenmayor et al, 2013).

Entretanto, apesar do crescimento da taxa de sobrepeso e obesidade entre crianças e adolescentes no Brasil e no mundo, e de toda a atenção focada nas conseqüências mais visíveis desse processo, as deficiências nutricionais ainda são uma preocupação e podem contribuir para distúrbios metabólicos (Vieira et al, 2007; Vitolo e Bortolini, 2007; Hadler et al,

2008; Camillo et al, 2008; Silva et al, 2007; Peters et al, 2009). Crianças e adolescentes tem maior suscetibilidade ao desenvolvimento das carências nutricionais, devido ao rápido crescimento do organismo e à maior vulnerabilidade dos indivíduos (Oliveira et al, 2011), podendo-se citar como exemplos a deficiência de ferro e a deficiência de vitamina A, porém muitos outros micronutrientes podem estar deficientes, tendo em vista a alimentação de baixa qualidade nesta faixa etária.

Uma das carências nutricionais mais comuns em crianças e adolescentes é a deficiência de ferro, a qual desencadeia, dentre outros, a anemia, considerada um grave problema de saúde pública (Biscegli et al, 2006). Estima-se que a anemia ainda afete aproximadamente 55% das crianças menores de cinco anos no Brasil e 47% delas no mundo (McClean et al, 2007; World Health Organization, 2008).

A deficiência de vitamina A ainda é um grave problema de saúde pública em mais de 60 países, com prevalência elevada na Ásia, África e América Latina. O Brasil foi classificado como área de carência sub-clínica grave pela Organização Mundial da Saúde e pela Organização Pan-Americana da Saúde (World Health Organization, 1995; McLaren & Frigg, 1999). Cerca de 23% das mortes por diarreia em crianças brasileiras são devido à essa deficiência, e estima-se ainda que o número de crianças com carência marginal de vitamina A seja cinco a dez vezes maior que o número de crianças com carência clínica de fato (Ramalho et al, 2002). Pensava-se que o problema estaria limitado às regiões Norte e Nordeste do Brasil, porém, dados dos últimos 20 anos apontam que este é um problema de saúde pública em todo o país, sendo a ingestão de vitamina A baixa em 60% ou mais da população (Ramalho et al, 2002).

Embora pareça paradoxal, as deficiências nutricionais podem coexistir com o excesso de peso e a obesidade tem sido relacionada a deficiência de vitaminas (Lira et al. 2011). Além disso, vitaminas e metabólitos se associam à promoção de doenças crônicas não-transmissíveis, incluindo sobrepeso, obesidade, hipertensão e síndrome metabólica (Takitani et al. 2011; Jeyakumar et al. 2011; Mostafaie et al. 2011; Romanowska et al. 2011; Smith & Adams 2011; Lavine et al. 2011; Khor et al. 2011; Zhou et al. 2010; Scott et al. 2010).

Em estudo recente, foi demonstrado que alimentar ratos obesos em idade precoce com dieta enriquecida em vitamina A melhora a adiposidade visceral e a sensibilidade a insulina (Jeyakumar et al. 2011). Gallistl e colaboradores demonstraram que crianças obesas apresentam concentrações reduzidas de ácido fólico - e elevados níveis de homocisteína. Tal situação pode levar à disfunção endotelial, uma vez que o folato melhora a biodisponibilidade de óxido nítrico, apresenta efeitos antioxidantes e reduz a concentração de homocisteína (Gallistl et al, 2000).

Em revisão publicada em 2011, Smith e Adams apontam que frequentemente é observada a coexistência de excesso de peso, diabetes tipo 2, esteatose hepática não alcoólica e resistência insulínica. Este estudo mostra que entre as estratégias de tratamento atuais para melhorar a resistência insulínica está a redução do estresse oxidativo com o uso de antioxidantes, como a vitamina E, e que essa suplementação tem mostrado resultados promissores na melhora da esteatose hepática e da inflamação (Smith & Adams 2011). Em outro trabalho, seis semanas de suplementação com alfa tocoferol reduziram os níveis de TNF-alfa em pacientes com síndrome metabólica (DEVARAJ et al, 2008).

Baixas concentrações de 25-hidroxivitamina D3 têm sido associadas ao aumento do risco para diabetes e a outros fatores de risco para doenças cardiovasculares (Aasheim et al, 2008). Lira e colaboradores conduziram estudo para averiguar os efeitos da suplementação das vitaminas E e D na produção de citocinas inflamatórias no tecido adiposo em ratos alimentados com dieta hiperlipídica. Neste estudo, essas vitaminas mostraram efeito antiinflamatório e os pesquisadores sugerem que a suplementação de vitamina E e de vitamina D possa fazer parte do tratamento para reduzir os níveis de proteínas pró-inflamatórias em pacientes obesos (Lira et al, 2011).

Algumas vitaminas e minerais são capazes de participar indiretamente na redução do estresse oxidativo, melhorando o controle glicêmico e/ou exercendo atividade antioxidante (Lira et al, 2011). De forma geral, micronutrientes têm sido propostos como terapias adjuvantes (Bonfont-Rousselot, 2004). Por exemplo, Foss (Foss, 2009) especula que a deficiência de vitamina D seja a causa de obesidade, a qual poderia ser revertida através da melhoria dos níveis de vitamina D. Czernichow e colaboradores demonstram que a incidência da síndrome metabólica foi reduzida em indivíduos saudáveis que receberam uma fórmula antioxidante contendo vitamina E, vitamina C, beta-caroteno, zinco e selênio (Czernichow et al, 2009).

Além disso, há estudos que mostram associação entre a deficiência de micronutrientes e alterações no metabolismo lipídico e glicídico em indivíduos eutróficos e/ou com sobrepeso e obesidade. Revisão desenvolvida em 2010 mostra que vitaminas e minerais tem um importante papel no metabolismo da glicose, apontando a vitamina B12, o folato, a piridoxina, o pantotenato, a niacina, a riboflavina e a tiamina como vitaminas essenciais que atuam como coenzimas na produção de energia e em outros processos metabólicos; as vitaminas A, C, E, e os minerais zinco e magnésio também são apontados como tendo propriedades antioxidantes, o que é de interesse em casos de hiperglicemia, uma vez que este distúrbio aumenta o estresse oxidativo por múltiplos mecanismos (Martini et al, 2010; Diaz et al, 1997; Jha et al, 1995).

Em estudo avaliando a relação entre os níveis séricos de retinol e betacaroteno com o risco cardiovascular na obesidade, a diminuição dos níveis de betacaroteno se relacionou

com o aumento do IMC, e foram encontradas menores concentrações de betacaroteno e de retinol em pacientes com síndrome metabólica (Villaça et al, 2010). No trabalho de Li e colaboradores (2013) a síndrome metabólica foi relacionada a menor ingestão de vitamina C, zinco e cobre; a menor concentração de betacaroteno; e à diminuição da ingestão de vitamina C, E e manganês, conforme aumentava os parâmetros que caracterizam essa patologia (Li et al, 2013). Kostoglou-Athanassiou e colaboradores (2013) encontraram menores níveis de vitamina D em diabéticos tipo 2 do que em sujeitos controles e associação inversa entre os níveis de vitamina D e a concentração de hemoglobina glicosilada. E esses pesquisadores sugerem que a suplementação de vitamina D poderia melhorar o controle glicêmico nessa doença (Kostoglou-Athanassiou et al, 2013).

Entretanto, apesar das associações citadas e da importância dos estudos que abordam esse tipo de relação, existem poucos trabalhos na literatura atual correlacionando ingestão vitamínica, interação nutriente-nutriente e resposta metabólica apresentada por crianças e adolescentes, independente do estado nutricional.

Os mecanismos pelos quais os sistemas biológicos de crianças e adolescentes interagem para culminar em uma resposta frente a uma intervenção ainda devem ser elucidados para melhor entendermos Nutrição. Muitos dos resultados controversos que têm sido observados em pesquisas da área de nutrição podem estar refletindo diferenças na resposta metabólica entre os indivíduos em estudo.

Um bom exemplo é o trabalho de Dreon e colaboradores (1999), que encontrou três respostas fenotípicas diferentes para uma dieta pobre ou moderada em lipídios. Situação semelhante é o caso da obesidade, em que é indicado ao paciente ter um balanço energético negativo por meio da redução da ingestão alimentar e aumento da atividade física, ou até mesmo por meio de tratamento farmacológico e cirurgia, entretanto, independente da estratégia adotada, a resposta individual é altamente variável.

Apesar de décadas de intensa pesquisa tradicional, uma grande parte da patogênese molecular por trás das doenças metabólicas complexas ainda permanece desconhecida (Meng et al, 2013). Sabe-se que as pessoas podem variar nas suas respostas individuais frente a uma intervenção, entretanto, infelizmente, ainda são poucos os trabalhos em que é aplicada uma mesma intervenção em diferentes grupos de indivíduos com o objetivo de avaliar suas respostas metabólicas. Estes estudos poderiam ser úteis na identificação de mecanismos e biomarcadores associados à perda ou à manutenção de peso, por exemplo, e, conseqüentemente, na identificação do tratamento dietético mais apropriado e eficaz para diferentes perfis de sujeitos.

Tentativas para separar os indivíduos conforme sua resposta metabólica têm encontrado uma variedade de respostas consideradas normais (Van Ommen et al. 2009). Cientistas que estudam sistemas biológicos tem sugerido estudos para analisar a resposta

de cada indivíduo a uma conhecida intervenção dietética (“*challenge*” - desafio). Ou seja, comparar os níveis de marcadores biológicos antes e após a introdução de um alimento, ou de nutrientes específicos, por determinado período de tempo, com posterior clusterização (agrupamento) dos sujeitos conforme suas respostas.

Diante deste cenário, o presente trabalho propõe a identificação de grupos metabólicos, e posterior análise da variação da resposta dos indivíduos após o desafio de uma ingestão conhecida de nutrientes, por meio de um tipo de estudo que se conhece como “Pesquisa de Descoberta” ou “*Discovery Science*”.

Esta nova abordagem nos dá a oportunidade de ir além das abordagens convencionais reducionistas (Meng et al, 2013). Trata-se de uma ciência que não parte de hipóteses previamente definidas para procurar resultados, parte, no entanto, dos resultados obtidos após uma intervenção para tentar explicar a complexidade do ser humano e a interação entre seus sistemas biológicos, sem preconceitos das vias metabólicas (Panagioutou e Nielsen, 2009).

OBJETIVOS

- Identificar a existência de diferentes grupos metabólicos (*clusters*) formados por indivíduos de 9 a 13 anos sob a suplementação de um conjunto de vitaminas e minerais (retinol, tiamina, riboflavina, piridoxina, ácido fólico, vitamina B12, vitamina D, vitamina E, niacina, vitamina C, biotina, pantotenato, cálcio, fósforo, ferro, magnésio e zinco) utilizando, para a formação desses grupos, o perfil bioquímico (níveis séricos de colesterol total, LDL colesterol, VLDL colesterol, HDL colesterol, triglicérides e glicemia) apresentado por tais indivíduos em 3 momentos do estudo: antes da suplementação (M1); após 6 semanas de suplementação (M2) e após mais 6 semanas sem a suplementação (M3).
- Caracterizar a evolução do perfil nutricional e metabólico destes *clusters* durante os 3 momentos.

METODOLOGIA E CASUÍSTICA

Modelo do Estudo:

Estudo clínico de intervenção auto-controlado.

Esta pesquisa é classificada como “clínica” posto que envolve pacientes (humanos), e nela os investigadores designam pessoas elegíveis para grupos de intervenção; é considerada como sendo “de intervenção” pois o pesquisador não se limita à simples observação, mas interfere pela exclusão, inclusão ou modificação de um determinado fator; e é chamada de “auto-controlada” pois o próprio indivíduo analisado é controle dele mesmo, dessa forma, são excluídos os fatores das variáveis interpessoais, o que é indicado quando o objetivo é o segmento de uma intervenção e o que também justifica a ausência de um grupo controle (no protocolo proposto no presente estudo, o mesmo indivíduo é analisado antes de qualquer intervenção, imediatamente após 6 semanas de intervenção e após outras 6 semanas sem nenhuma intervenção) (HOCHMAN, 2005; Campana et al, 2001).

Seleção dos Participantes:

Os indivíduos participantes desta pesquisa foram selecionados em três escolas da cidade de Ribeirão Preto (São Paulo, Brasil): Escola Estadual Professor Rafael Leme Franco, Escola Estadual Professor Walter Ferreira e Escola Particular Viktor Frankl. Estas escolas são localizadas nas proximidades da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (FMRP-USP) e seus alunos residem na mesma região em que estão localizadas.

Inicialmente foram contatadas cinco escolas dessa região porém, somente as três citadas acima, concordaram em participar. Nestas três escolas foram então realizadas diversas reuniões entre a equipe organizadora deste estudo e a equipe escolar, as quais incluíram ensinamentos de nutrição e avaliação do estado nutricional das crianças. Reuniões foram também feitas entre a equipe organizadora deste projeto e os pais dos alunos, para explicar detalhadamente sobre esta pesquisa e para fornecer a avaliação do estado nutricional de seus filhos. O convite para os alunos participarem do projeto, bem como a seleção dos sujeitos que atendiam aos critérios de inclusão, ocorreram somente após estas reuniões explicativas.

O tamanho amostral foi baseado em estudo piloto realizado nos Estados Unidos, no estado de Arkansas, onde também foram selecionados grupos metabólicos para posterior associação com genotipagem e proteômica. Dessa forma, determinou-se a participação de pelo menos 100 indivíduos. Vale ressaltar que os cálculos de tamanho amostral tradicionais não se aplicam em “Discovery Science”. Novas estratégias para validar fórmulas que determinem o tamanho amostral em estudos de sistemas biológicos estão sendo testadas, porém, até o momento, os resultados são controversos. Tendo em vista que as descobertas

de estudos “Discovery Science”, terão que ser validadas em estudos experimentais e *in vitro*, a questão do tamanho amostral passa a estar em segundo plano.

Aprovação do Comitê de Ética:

Este estudo, bem como os Termo de Consentimento e de Assentimento Livre e Esclarecido, foram aprovados pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo (Processo HCRP Nº 14255 / 2010) e pela CONEP - Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (Processo CAAE Nº 00969412.6.0000.5440; Número do Parecer: 220.625; Data da Relatoria:18/02/2013). Os Termos de Consentimento e de Assentimento Livre e Esclarecido encontram-se nos Anexos.

Critérios de Inclusão:

Somente crianças e adolescentes de 9 a 13 anos, clinicamente estáveis (sem doença crônica que pudesse interferir com a coleta de dados e com os resultados dos metabólitos) foram incluídos neste estudo, após o consentimento de seus pais ou responsáveis legais. Quando o indivíduo ou seus responsáveis diretos se recusaram a participar, o próximo sujeito elegível foi convidado.

Critérios de Exclusão:

Foram excluídos do estudo crianças e adolescentes que apresentaram três ou mais episódios de fezes líquidas ou semi-líquidas nas 24 horas antecedentes à primeira coleta de dados; que estavam fazendo uso de suplementação de vitaminas e/ou minerais; que estavam sob dieta supervisionada para redução de peso, ou que estavam sob qualquer outro tipo de dieta. Todo indivíduo com doença crônica previamente diagnosticada foi excluído.

Indivíduos Estudados:

Inicialmente, 150 crianças e adolescentes atenderam os critérios de inclusão e exclusão e concordaram, por escrito, em participar. Na primeira coleta de dados (M1) compareceram 141 indivíduos, na segunda coleta (M2), 139 indivíduos e, na terceira coleta (M3), 136 indivíduos.

Crianças de todos os estados nutricionais foram incluídas neste estudo (magras, eutróficas, com sobrepeso e obesas), a fim de não excluir qualquer indivíduo que, por ventura, tenha alterações metabólicas, independente de seu índice de massa corporal.

O objetivo da pesquisa foi explicado aos pais ou responsáveis legais, que deram consentimento informado por escrito para participar (termo de consentimento). Cada criança

e adolescente foi questionado se queria participar no estudo, tanto verbalmente como por escrito (termo de assentimento).

Delineamento do Estudo:

O delineamento do estudo foi baseado na medida do perfil bioquímico e do estado nutricional (antropometria, composição corporal e dados de ingestão alimentar) em três momentos: no início do estudo (antes de ser iniciada qualquer intervenção), após seis semanas de suplementação de vitaminas e minerais e após outras seis semanas sem essa intervenção (esquema), para avaliar como um indivíduo, de 9 a 13 anos de idade, responde à suplementação de múltiplos micronutrientes.

Em cada uma dessas três coletas de dados foram obtidos dados antropométricos, de composição corporal e de ingestão alimentar para a análise do estado nutricional, bem como sangue para as dosagens bioquímicas.

Avaliou-se também a atividade física praticada por esses indivíduos, em 3 dias letivos (dias diferentes dos dias de coleta de dados), em suas respectivas escolas.

Suplementação Nutricional:

A forma escolhida para veicular a suplementação das vitaminas e minerais aos participantes dessa pesquisa foi uma barra de leite que continha os nutrientes de interesse (nome comercial "Nestrovit®", da marca "Nestlé"). A descrição da composição deste produto em comparação com as necessidades nutricionais de indivíduos de 9 a 13 anos de idade encontra-se nos "Anexos".

Torna-se importante ressaltar que apesar de ter sido usado neste estudo um produto comercial, não temos nenhum interesse comercial ou lucrativo com relação ao mesmo. Tal produto não é vendido no Brasil.

Os indivíduos consumiram o suplemento nutricional durante todos os dias letivos de suas escolas, ou seja, somente não ingeriram as barras de leite suplementadas nos dias em que não havia aula na escola, nos finais de semana e nos feriados. É importante ressaltar

que os indivíduos ingeriram o suplemento na frente do pesquisador responsável, para garantirmos sua total ingestão. Quando os participantes faltavam à aula nos dias letivos, a equipe do projeto levava a barra de leite até suas casas para que os mesmos pudessem ingeri-las.

Durante as seis semanas de suplementação, que ocorreram entre a primeira e a segunda coleta de dados, cada participante ingeriu, por dia letivo, de duas a três barras de leite suplementadas, de acordo com sua idade: indivíduos de 9 a 11 anos ingeriram duas barras por dia e os de 12 e 13 anos ingeriram três barras por dia (critério adotado baseado em pesquisa de aceitação prévia e baseado no fato de que não queríamos ultrapassar 3% do Gasto Energético Total em ambas as idades).

Coleta de Dados:

As três coletas de dados foram realizadas no Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, da Universidade de São Paulo, Brasil, na “Sala de Coleta de Sangue”, local que conta com toda infra-estrutura e segurança necessárias aos procedimentos efetuados, além de dispor de amplo espaço para que os participantes e seus acompanhantes pudessem se acomodar adequadamente.

Em cada uma das três coletas de dados, ônibus escolares foram disponibilizados para buscar os participantes em suas casas e levá-los de volta ao final da coleta, a fim de evitar atrasos e garantir a participação de todos. Cada coleta de dados aconteceu em dois dias de um final de semana (sábado e domingo), a fim de melhorar a logística de atendimento. Metade dos participantes compareceram no sábado e metade no domingo.

Antes da primeira coleta de dados todos os participantes foram submetidos à avaliação de um pediatra para determinação do estadiamento puberal conforme critérios estabelecidos por Tanner, os quais utilizam 5 escalas de estadiamento para desenvolvimento mamário e pelos pubianos em meninas, e para tamanho testicular e pelos pubianos em meninos (Tanner, 1962); bem como à avaliação de sua condição econômica, por meio de questionário auto-aplicado intitulado “Critério de Classificação Econômica Brasil da ABEP – Associação Brasileira de Empresas de Pesquisa” (em Anexo).

Além disso, em cada uma das três coletas de dados os participantes foram submetidos a antropometria (aferição de peso, estatura e circunferência da cintura), à avaliação da composição corporal (por meio da técnica de impedância bioelétrica), à avaliação da ingestão alimentar (por meio de um questionário de frequência alimentar) e à coleta de sangue para dosagens bioquímicas de albumina, glicemia, colesterol total, LDL colesterol, VLDL colesterol, HDL colesterol, triglicérides, PCR (proteína C reativa), UIBC (capacidade latente de ligação do ferro), ferro, concentração de leucócitos, hemoglobina e VCM (volume corpuscular médio).

Antropometria e Avaliação da Composição Corporal

Peso, Estatura e IMC

A estatura e o peso foram aferidos após 12 horas de jejum por uma nutricionista logo após a coleta de sangue, de acordo com os procedimentos detalhados por Jelliffe (1968) e *World Health Organization* (1995).

Os participantes foram considerados como tendo magreza grave, se Índice de Massa Corporal (IMC) < Percentil 3; magreza, se Percentil 3 ≤ IMC < Percentil 15; peso adequado, se Percentil 15 ≤ IMC < Percentil 85; sobrepeso, se Percentil 85 ≤ IMC < Percentil 97 e obesidade se IMC ≥ Percentil 97, conforme curvas de IMC para idade, para indivíduos de cinco a 19 anos, da OMS (OMS, 2007).

Circunferência de Cintura

A circunferência da cintura também foi aferida com o indivíduo em jejum. A medida da circunferência da cintura foi aferida no nível imaginário da linha horizontal na região mediana entre a última costela e a crista ilíaca (Heyward et al, 1996), sendo que, caso o participante apresentasse um excesso de peso que impedisse a localização desta região, a cicatriz umbilical seria considerada como o nível da linha horizontal. Uma vez definido o critério, o mesmo foi adotado nos três momentos da coleta de dados.

Composição Corporal

A composição corporal dos indivíduos foi analisada utilizando-se aparelho de Impedância Bioelétrica Tetrapolar (com quatro eletrodos), da marca Biodynamics 450®. Esse aparelho utiliza as equações de Houtkooper e colaboradores (1992) e de Danford, Schoeller & Kushner (1992) em seus cálculos, à medida em que os dados do indivíduo são inseridos, e é capaz de fornecer informações sobre a massa gorda, a massa livre de gordura e a água corporal total do sujeito analisado. Este sistema aplica uma corrente de 500 microamperes em uma frequência única de 50 kHz, sendo que, com a configuração tetrapolar, dois eletrodos aplicam a corrente, enquanto os outros dois a recebem. A corrente de 500 microamperes que é aplicada não constitui risco para o indivíduo analisado.

Neste projeto, as seguintes condições foram seguidas para que fosse assegurada a qualidade da aferição: ausência de consumo de álcool e prática de exercícios pelos participantes nas 12 horas anteriores ao teste; jejum de 12 horas por parte dos voluntários; indivíduo mantido em posição deitada durante o exame, sem que seus braços tocassem seu tronco e sem que suas pernas encostassem uma na outra; pele do voluntário higienizada com álcool antes dos eletrodos serem colocados; posicionamento dos eletrodos no dorso da mão e do pé dos mesmos, de acordo com técnica de Lukaski (1987).

Análise da Ingestão Alimentar Habitual

O consumo habitual de alimentos foi aferido por meio de um questionário de frequência alimentar (QFA) (Fumagalli et al, 2008 adaptado para criança), aplicado em cada uma das três coletas de dados (anexo).

A decisão de aplicar um QFA em cada coleta de dados se deve ao fato de que, para relatarmos a ingestão usual de micronutrientes do estudo utilizando somente recordatórios alimentares de 24 horas (R24h), deveríamos aplicar pelo menos 15 R24h por indivíduo em cada momento da pesquisa, a fim de minimizar as variações inter-individuais (Stote et al, 2010; Pereira et al, 2010), o que totalizaria 45 R24h por criança. Como estamos investigando 136 indivíduos, essa abordagem se tornaria inviável. Dessa forma, o QFA tornou-se uma escolha cientificamente correta e aplicada ao objetivo do estudo.

O QFA teve como objetivo investigar a ingestão alimentar dos 30 dias que precediam sua aplicação, informação que pôde ser transformada em consumo alimentar diário. Por meio dele, pôde-se efetuar a avaliação da ingestão habitual de energia, macronutrientes, vitaminas e minerais e o monitoramento de possíveis alterações na dieta habitual que pudessem interferir nos resultados.

Os três QFAs foram aplicados na presença dos pais/responsáveis legais, para que o relato da ingestão alimentar dos participantes fosse feito com maior confiabilidade (Livingstone & Robson, 2000). Na aplicação desse inquérito alimentar foi utilizado um álbum fotográfico (Monteiro, 2007 adaptado) com os alimentos apresentados no QFA, bem como os tamanhos de suas porções, para melhorar a precisão das informações coletadas.

A inserção dos dados de ingestão de alimentos no computador foi efetuada duas vezes, para garantir a correta digitação. Antes da entrada dos dados, todas as informações foram revisadas para a identificação de possíveis erros na descrição dos alimentos ou preparações consumidos, bem como no tamanho e na quantidade das porções.

Um *Software* de Nutrição foi utilizado para analisar a ingestão dietética dos indivíduos estudados: o *Software* DietWin®, versão Profissional, 2011. Este programa contém as informações da Tabela Taco e a compilação de dados das principais tabelas nutricionais (IBGE, USDA, CENEXA, Alemã e Repertório Geral dos Alimentos). Por meio dele é possível adquirir o valor nutricional - macro e micronutrientes - dos alimentos relatados. Os alimentos utilizados na análise do consumo alimentar foram padronizados, levando-se em consideração a tabela que continha mais informações sobre os micronutrientes que os compunham. Dessa forma, priorizou-se o uso das informações fornecidas pelo programa "DietWin" e como segunda opção foram utilizadas as informações fornecidas pela Tabela TACO, posto que esta não traz informações relativas à concentração de alguns micronutrientes, como a vitamina B12, por exemplo. Em anexo segue a lista dos alimentos padronizados.

Procedimentos Clínicos e Testes Laboratoriais:

Em cada coleta de dados, após jejum de doze horas, foi coletado sangue para as análises laboratoriais. Para as dosagens de albumina, glicemia, colesterol total, LDL colesterol (*Low Density Lipoprotein*), VLDL colesterol (*Very Low Density Lipoprotein*), HDL colesterol (*High Density Lipoprotein*), triglicérides, PCR (proteína C reativa), UIBC (capacidade latente de ligação do ferro) e ferro foi utilizado o soro para as análises de concentração de leucócitos e para a análise de hemoglobina e VCM (volume corpuscular médio) foi considerado o sangue total.

A coleta de sangue foi realizada por flebotomistas treinados. Tal procedimento oferece risco mínimo (Categoria 2; 45 CFR 46.110) e é rotineiramente feito no Hospital das Clínicas da FMRP-USP.

Para garantir a correta identificação das amostras, bem como o sigilo sobre os resultados dos exames dos participantes, cada sujeito recebeu um número e um código de barras individual, que foi mantido com os principais investigadores na Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Brasil. Todas as amostras de sangue foram codificadas no momento em que foram coletadas e encaminhadas para as respectivas análises no próprio Hospital das Clínicas da FMRP-USP. Foi fornecido café da manhã a todos os participantes, imediatamente após a coleta de sangue, dos dados antropométricos e do exame de bioimpedância.

Dosagens Laboratoriais

Albumina

Dosada por método colorimétrico para a determinação de albumina em soro (kit comercial Albumina AA®, Wiener lab. 2000 Rosario – Argentina). Valor de referência: 3,0 – 5,4 g/dl.

Glicemia

Dosada por método enzimático para a determinação de glicose no soro ou plasma (kit comercial Glicemia enzimática AA®, linha líquida, Wiener lab. 2000 Rosario – Argentina). Valor de referência: 70 - 100 mg/dl.

Colesterol Total

Dosado por método enzimático para determinação de colesterol em soro ou plasma (kit comercial Colestat enzimático AA®, linha líquida, Wiener lab. 2000 Rosario – Argentina). Valor de referência: < 200 mg/dl.

HDL Colesterol

Dosado por método colorimétrico sem precipitação para a determinação de HDL colesterol em soro ou plasma (kit comercial HDL Colesterol monofase AA plus®, Wiener lab. 2000 Rosario – Argentina). Valor de referência: > 35 mg/dl.

LDL Colesterol e VLDL Colesterol

O LDL colesterol plasmático foi calculado por meio da fórmula:

$$\text{LDL Colesterol} = \text{Colesterol Total} - (\text{VLDL colesterol} + \text{HDL colesterol}), \text{ sendo que: } \text{VLDL colesterol} = \text{Triglicérides} / 5.$$

Valor de referência de LDL colesterol: < 130 mg/dl e de VLDL colesterol: $\leq$ 30 mg/dl.

Triglicérides

Dosado por método enzimático para determinação de triglicérides em soro ou plasma (kit comercial TG Color GPO/PAP AA®, linha líquida, Wiener lab. 2000 Rosario – Argentina). Valor de referência: < 150 mg/dl.

Proteína C Reativa

Dosada por método imunoturbidimétrico com látex para a determinação quantitativa de proteína C reativa (PCR) (kit comercial PCR ultrasensible®, linha Turbitest AA, Wiener lab. 2000 Rosario – Argentina). Valor de referência: até 0,5 mg/dl.

UIBC (Capacidade Latente de Ligação do Ferro)

Dosado por método colorimétrico direto para a determinação da capacidade latente de ligação do ferro (UIBC) em soro ou plasma (kit comercial UIBC/TIBC AA®, linha líquida, Wiener lab. 2000 Rosario – Argentina). Valor de referência: 140 – 280 mg/dl.

Ferro

Dosado por método colorimétrico direto para a determinação de ferro em soro ou plasma (kit comercial Fer-color AA®, linha líquida, Wiener lab. 2000 Rosario – Argentina). Valor de referência: 50 – 120 µg/dl.

Concentração de Leucócitos

Dosada por citometria de fluxo, utilizando-se o aparelho CELL-DYN Ruby® (analisador multiparâmetro de hematologia utilizado para diagnóstico *in vitro*). Valor de referência: $7,8 \pm 3 \times 10^3$ células/ml.

Hemoglobina

Dosada por medição colorimétrica, utilizando-se o aparelho CELL-DYN Ruby®. Valor de referência: menino: $16,0 \pm 2$ g/dl; menina: $14,0 \pm 2$ g/dl.

VCM (Volume Corpuscular Médio)

O volume corpuscular médio foi calculado por meio da fórmula:

Volume Corpuscular Médio = (Hematócrito x 10) / Concentração de Hemácias

Valor de referência: menino: 87 ± 7 fL; menina: 90 ± 9 fL.

Avaliação da Atividade Física

A avaliação da atividade física dos participantes deste estudo foi realizada em 3 dias letivos por meio do uso do aparelho Bodybugg (Apex Fitness®). Essa ferramenta é um bracelete que mede o gasto energético total, o gasto energético durante a atividade física, o tempo de atividade física bem como a intensidade desta, através do cálculo do equivalente metabólico (MET) e realiza ainda a contagem de passos dados pelo indivíduo (Figura em anexo).

Entende-se por MET o valor correspondente à energia despendida por um sujeito em repouso. O valor de 1 MET corresponde a $3,5 \text{ ml O}_2 \times \text{kg}^{-1} \times \text{min}^{-1}$ e representa uma referência para a classificação da intensidade das atividades. Os valores do dispêndio energético são expressos em múltiplos de METs. Assim, se uma atividade requer 2 METs, esta necessita do dobro da energia que é despendida pelo sujeito em repouso (Ainsworth, et al, 1993; Bouchard et al, 1993).

Foram escolhidos dois dias letivos em que não havia aula de educação física e um dia letivo com essa disciplina para que os alunos participantes utilizassem o aparelho. Explicações referentes ao uso correto do Bodybugg foram fornecidas aos professores e aos alunos. O aparelho foi fixado no braço do participante no início da aula e retirado ao final de cada dia escolar pela pesquisadora, sendo o tempo de uso e os cuidados para o bom funcionamento do aparelho monitorados pela mesma.

O Bodybugg é um monitor de gasto energético que utiliza a associação de informações de peso, altura, gênero e idade com o processo chamado "multi-sensor". Este

processo envolve a coleta de uma série de dados usando vários sensores fisiológicos (acelerômetro, sensor de fluxo de calor, sensor de resposta galvânica da pele/condutividade e sensor de temperatura) ao invés de um único sensor, que é o que os outros dispositivos de contagem calórica realizam, como os pedômetros e monitores de frequência cardíaca. É esta abordagem multi-sensor que permite ao Bodybugg visualizar se o usuário está sentado, dormindo ou correndo. Isso torna o dispositivo confiável e adequado para estimar o gasto energético ao longo do dia (Apex Fitness Group, 2012).

A utilização do “Bodybugg” foi incluída neste estudo com o objetivo de identificar se haveriam diferenças entre o nível de atividade física praticado pelos possíveis grupos metabólicos formados.

Para a classificação dos níveis de atividade física, foi adotado o critério descrito por Pate e colaboradores (2004), que define os níveis de atividade física para crianças conforme tabela abaixo:

Classificação do Nível de Atividade Física	Equivalente Metabólico
Sedentário	$\leq 1,4$ METs
AF leve	1,5 – 2,9 METs
AF moderada	3 – 5,9 METs
AF vigorosa	≥ 6 METs

Técnica Proposta para Identificação dos Grupos Metabólicos (*clusters*)

Para atender ao objetivo de identificar a existência de diferentes grupos metabólicos (*clusters*) formados pelos indivíduos estudados na presente pesquisa, foi utilizado o teste estatístico K-cluster, técnica comum na análise de dados estatísticos, usada em muitos campos de pesquisa, como a bioinformática. A análise de “cluster” foi originada em 1932 na antropologia, pelos pesquisadores Driver e Kroeber, e desde então noções populares do significado de “cluster” incluem a informação de que os grupos formados por meio dessa técnica apresentam pequenos intervalos entre os resultados obtidos por seus membros (Bailey, 1994).

O teste K-cluster consiste na tarefa de agrupar um conjunto de indivíduos de tal forma que os sujeitos que são colocados no mesmo grupo (chamado de cluster) são mais semelhantes (em um ou mais sentidos) uns com os outros do que quando são comparados a indivíduos de outros grupos. Trata-se de uma análise de agrupamento, em que se inicia com todos os dados analisados na pesquisa e se procura uma forma de classificá-los. Basicamente, a análise de cluster procura agrupar uma amostra de objetos em classes

homogêneas, com base na similaridade de suas variáveis (Bailey, 1994; Estivill-Castro, 2002).

O objetivo deste método é minimizar a variância intra-cluster. Esta minimização é realizada através de um procedimento em que as observações são colocados em grupos de tal forma que a distância entre cada observação e o vetor significativo do seu conjunto ("K") é tão pequena quanto possível (Steinley de 2003, 2006a, 2006b).

O uso da técnica e o número de clusters formados dependem dos dados disponíveis e das intenções de uso dos resultados. A análise de cluster não é uma tarefa automática, mas sim um processo iterativo de descoberta do conhecimento que envolve tentativa e erro, sendo frequentemente necessário modificar os parâmetros a serem usados como critério para separação dos grupos, até que se encontrem resultados com as propriedades desejadas (Bailey, 1994; Estivill-Castro, 2002).

No presente estudo foram colocados os valores de todos os exames bioquímicos aferidos, em uma primeira tentativa, como critério para separação dos clusters. Todos os exames que tiveram um valor de ANOVA estatisticamente significativo foram considerados para tentativas posteriores, que incluíram também a análise de quantos clusters poderiam ser formados. Os melhores resultados foram obtidos quando o número de clusters escolhido foi igual a 2. No presente estudo, os níveis de colesterol total, LDL, VLDL, HDL, triglicérides e glicemia foram os que mantiveram valores estatisticamente significativos pelo teste ANOVA em todas as tentativas. Além disso, tendo em vista a importâncias desses exames como referência para síndrome metabólica, esse perfil bioquímico foi eleito para o agrupamento dos indivíduos.

Análise Estatística

Todas as análises estatísticas foram feitas usando o programa SPSS versão 20.0.

Todas as variáveis foram testadas para normalidade. Foi feita análise descritiva para apresentar valores de média e desvio padrão (DP) e de mediana (mínimo e máximo). O teste ANCOVA com ajuste para variáveis de confusão foi aplicado para comparação entre dois grupos. $P < 0,05$ foi considerado estatisticamente significante.

Considerando que a ingestão de nutriente é uma variável dependente da ingestão de energia, os resultados serão apresentados ajustados para energia (Análise de Regressão Linear; variável dependente = nutriente; variável independente = energia e grupo).

Em todos os dados de ingestão alimentar do momento 2 (M2) foram adicionados, ao banco de dados, os micronutrientes adquiridos por meio da suplementação.

Para as análises longitudinais foram aplicados ANOVA de Medidas Repetidas, com ajuste para sexo, estadiamento puberal e idade, e análise de Múltiplas Comparações de

Bonferroni, além de ajuste para ingestão de energia, de carboidrato e de lipídio, quando as variáveis bioquímicas eram analisadas. O teste Qui-quadrado ou o teste exato de Fisher foram usados para comparações entre proporções. O teste k-cluster foi usado para encontrar os grupos metabólicos.

RESULTADOS

A caracterização do total da amostra estudada está apresentada em anexo (Tabela 1). São apresentados a média, o desvio padrão da média, a mediana, o valor mínimo e o valor máximo dos dados analisados (idade, antropometria, composição corporal, ingestão alimentar e exames bioquímicos).

Cento e trinta e seis indivíduos completaram a coleta até o terceiro momento do estudo (coleta 1: 141; coleta 2: 139; coleta 3: 136 participantes). De 136 participantes, 59 indivíduos eram do sexo masculino (43,4%) e 77 eram do sexo feminino (56,6%). A média de idade foi de $11,39 \pm 1,10$ anos. Dessa amostra, 13 indivíduos (9,6%) eram pertencentes ao estadiamento puberal 1; 59 (43,4%) ao estadiamento 2; 48 (35,3%) ao estadiamento 3; 12 (8,8%) ao estadiamento 4 e 4 (2,9%) ao estadiamento 5. Além disso, em relação à classificação econômica dos participantes, 7 deles (5,1%) eram pertencentes à categoria A2 (renda familiar mensal de R\$ 8418,00); 20 (14,7%) à categoria B1 (renda familiar mensal de R\$ 4418,00); 52 (38,2%) à categoria B2 (renda familiar mensal de R\$ 2565,00); 36 (26,5%) à categoria C1 (renda familiar mensal de R\$ 1541,00); 17 (12,5%) à C2 (renda familiar mensal de R\$ 1024,00); 4 (2,9%) à categoria D (renda familiar mensal de R\$ 714,00).

Do total da amostra estudada, de acordo com a classificação do IMC para idade da Organização Mundial da Saúde (2007), no momento 1 haviam: 6 indivíduos (4,4%) que apresentaram magreza grave; 8 indivíduos (5,9%) que apresentavam magreza; 57 (41,9 %) que estavam com o peso adequado; 31 (22,8%) tinham sobrepeso e 34 (25%) tinham obesidade. No momento 2: 5 indivíduos (3,7%) apresentaram magreza grave; 10 indivíduos (7,4%) apresentavam magreza; 58 (42,6%) tinham o peso adequado; 30 (22,1%) tinham sobrepeso e 33 (24,3%) tinham obesidade. E no momento 3: 5 indivíduos (3,7%) apresentaram magreza grave; 9 indivíduos (6,6%) apresentavam magreza; 56 (41,2%) tinham o peso adequado; 31 (22,8%) tinham sobrepeso e 35 (25,7%) tinham obesidade. Em média (média dos 3 momentos do estudo) encontramos: 5 indivíduos (3,7%) com magreza grave, 8 (5,9%) com magreza, 57 (41,9%) com peso adequado, 33 (24,3%) com sobrepeso e 33 (24,3%) com obesidade.

Foi realizada uma clusterização dos indivíduos participantes desse estudo (ou seja, separação dos participantes em grupos de indivíduos portadores de características semelhantes) utilizando como critério o perfil bioquímico (níveis de glicemia, colesterol total, triglicérides, VLDL colesterol, LDL colesterol e HDL colesterol) dos participantes com dados dos três momentos do estudo, por meio da técnica estatística K-cluster. Tal procedimento originou dois grupos metabólicos estatisticamente distintos: cluster 1 (com 111 indivíduos) e cluster 2 (com 25 indivíduos).

O cluster 1 mostrou melhor perfil para todas as variáveis em relação ao cluster 2 ($p < 0,05$), exceto para a variável “glicemia” no M1 ($p = 0,244$), de acordo com análise de ANOVA. Distância final entre os centros dos clusters: 144,67. A apresentação dos valores encontrados para esses parâmetros nesses dois clusters encontra-se na Tabela 2 nos Anexos.

Além disso, foram comparadas também as porcentagens de indivíduos que apresentaram alteração na glicemia e nos lípides séricos em cada cluster, em cada momento do estudo, e obteve-se resultados compatíveis com o descrito no parágrafo anterior. A porcentagem de indivíduos com glicemia alterada não diferiu entre os clusters no momento 1 e no momento 2 e, no momento 3, essa porcentagem foi maior no cluster 2 do que no cluster 1; já as porcentagens de sujeitos com valores elevados de colesterol total, triglicerídeos, VLDL e LDL foram maiores no cluster 2 do que no cluster 1 nos três momentos do estudo e, no momento 2, houve maior porcentagem de participantes com HDL reduzido no cluster 2 do que no cluster 1 (Tabela 3, nos Anexos).

Entre o cluster 1 e o cluster 2 a idade dos indivíduos não diferiu ($p = 0,858$), bem como o estadiamento puberal ($p = 0,266$) e a classificação econômica ($p = 0,578$), porém, houve diferença entre os sexos: o cluster 1 era composto por mais indivíduos do sexo feminino que o cluster 2 ($p = 0,006$), e houve diferença entre a classificação do estado nutricional de acordo com o IMC por idade no momento 1 ($p = 0,000$), no momento 2 ($p = 0,001$), no momento 3 ($p = 0,000$) e nas médias desses três momentos ($p = 0,001$).

O cluster 1 foi composto por 42 indivíduos do sexo masculino (37,8%), 69 do sexo feminino (62,2%) e apresentou média de idade de $11,40 \pm 1,13$ anos. Desse cluster, 12 indivíduos (10,8%) eram pertencentes ao estadiamento puberal 1; 48 (43,2%) ao estadiamento 2; 36 (32,4%) ao estadiamento 3; 12 (10,8%) ao estadiamento 4 e 3 (2,7%) ao estadiamento 5. Além disso, em relação à classificação econômica dos participantes, 6 deles (5,4%) eram pertencentes à categoria A2; 16 (14,4%) à categoria B1; 39 (35,1%) à categoria B2; 32 (28,8%) à categoria C1; 14 (12,6%) à C2; 4 (3,6%) à categoria D.

No cluster 1, de acordo com a classificação do IMC para idade da Organização Mundial da Saúde (2007), no momento 1: 5 indivíduos (4,5%) apresentaram magreza grave; 8 indivíduos (7,2%) magreza; 53 (47,7%) peso adequado; 26 (23,4%) sobrepeso e 19 (17,1%) obesidade. No momento 2: 4 indivíduos (3,6%) apresentaram magreza grave; 9 indivíduos (8,1%) magreza; 55 (49,5%) peso adequado; 24 (21,6 %) sobrepeso e 19 (17,1%) obesidade. No momento 3: 5 indivíduos (4,5%) apresentaram magreza grave; 8 indivíduos (7,2%) magreza; 52 (46,8%) peso adequado; 26 (23,4%) sobrepeso e 20 (18%) obesidade. Na média dos três momentos do estudo: 4 indivíduos (3,6%) apresentaram magreza grave; 8 indivíduos (7,2%) magreza; 53 (47,7%) peso adequado; 27 (24,3%) sobrepeso e 19 (17,1%) obesidade.

O cluster 2 foi composto por 17 indivíduos do sexo masculino (68%), 8 do sexo feminino (32%) e apresentou média de idade de $11,44 \pm 0,96$ anos. Desse cluster, 1 indivíduo (4%) era pertencente ao estadiamento puberal 1; 11 (44%) ao estadiamento 2; 12 (48%) ao estadiamento 3; e 1 (4%) ao estadiamento 5. Além disso, em relação à classificação econômica dos participantes, 1 deles (4%) era pertencente à categoria A2; 4 (16%) à categoria B1; 13 (52%) à categoria B2; 4 (16%) à categoria C1 e 3 (12%) à C2.

No cluster 2, no momento 1: 1 indivíduo (4%) apresentou magreza grave; 4 (16%) peso adequado; 5 (20%) sobrepeso e 15 (60%) obesidade. No momento 2: 1 indivíduo (4%) apresentou magreza grave; 1 (4%) magreza; 3 (12%) peso adequado; 6 (24%) sobrepeso e 14 (56%) obesidade. No momento 3: 1 (4%) apresentou magreza; 4 (16%) peso adequado; 5 (20%) sobrepeso e 15 (60%) obesidade. Na média dos três momentos do estudo: 1 indivíduo (4%) apresentou magreza grave; 4 (16%) peso adequado; 6 (24%) sobrepeso e 14 (56%) obesidade.

Nas tabelas de comparação entre os clusters 1 e 2 a seguir, estão sendo apresentados apenas os resultados estatisticamente significativos. E na sessão “Anexos”, encontram-se as tabelas com todos os resultados apresentados pelos indivíduos dos clusters 1 e 2 (Tabelas 2 a 6), estatisticamente significativos ou não, inclusive a tabela com a comparação da atividade física praticada por esses dois grupos metabólicos (Tabela 6). Em relação à atividade física, não foram encontradas diferenças significativas entre o cluster 1 e o cluster 2, sendo que ambos os grupos praticam um nível de atividade física leve.

A tabela 7 compara os dados de antropometria e de composição corporal entre clusters 1 e 2. Os participantes do cluster de melhor perfil metabólico (cluster 1) apresentam menor peso, IMC, CC e massa gorda (% peso) quando comparado aos participantes do cluster 2. A massa corporal magra (% peso) e a água corporal total (% peso) foram estatisticamente maiores nos participantes do cluster 1.

Tabela 7 - Comparação dos dados de antropometria e composição corporal apresentados pelos indivíduos do cluster 1 e do cluster 2, bem como as médias dos 3 momentos, avaliados pela análise de ANCOVA (ajustado para idade, gênero e estadiamento puberal). Os resultados estão apresentados em média $\pm$ desvio padrão da média e mediana (valor mínimo – valor máximo), de acordo com o período do estudo: momento 1 (“M1”), momento 2 (“M2”), momento 3 (“M3”).

Variável	Cluster 1 (n = 111)	Cluster 2 (n = 25)	P valor
Peso (kg) M1	45,92 $\pm$ 14,41	59,97 $\pm$ 21,68	0,000

	43,60 (23,95 – 97,75)	55,85 (29,20 - 123,15)	
Peso (kg) M2	46,41 ± 14,47 43,65 (24,70 – 97,55)	60,57 ± 21,92 56,30 (29,30 - 124,45)	0,000
Peso (kg) M3	46,71 ± 14,35 44,55 (25,40 - 97,55)	61,27 ± 21,47 56,70 (30,25 - 124,80)	0,000
Média de Peso (kg)	46,35 ± 14,40 44,03 (24,85 - 97,62)	60,60 ± 21,68 56,28 (29,58 - 124,13)	0,000
IMC (kg/m ²) M1	19,58 ± 4,45 18,54 (13,53 - 32,52)	24,84 ± 6,95 23,32 (14,13 - 41,25)	0,000
IMC (kg/m ²) M2	19,57 ± 4,42 18,52 (13,47 - 32,22)	24,86 ± 7,03 23,51 (14,25 - 41,41)	0,000
IMC (kg/m ²) M3	19,58 ± 4,41 18,35 (13,35 - 31,90)	24,96 ± 6,79 23,23 (14,62 - 39,97)	0,000
Média IMC (kg/m ²)	19,58 ± 4,42 18,45 (13,56 - 32,21)	24,88 ± 6,92 23,28 (14,33 - 40,81)	0,000
CC (cm) M1	71,76 ± 12,71 69,20 (53,40 – 112,90)	83,94 ± 20,27 85,00 (43,60 - 127,40)	0,000
CC (cm) M2	72,13 ± 12,80 69,20 (52,70 – 112,50)	86,41 ± 18,76 86,50 (57,60 - 130,00)	0,000
CC (cm) M3	72,26 ± 12,58 69,70 (53,60 – 111,70)	86,44 ± 17,50 87,00 (58,60 - 129,90)	0,000
Média CC (cm)	72,05 ± 12,65 69,17 (53,40 - 112,37)	85,59 ± 18,22 84,93 (57,97 - 129,10)	0,000
MM (% peso) M1	76,18 ± 6,77 77,30 (62,30 - 92,35)	70,16 ± 7,22 68,11 (60,34 - 81,36)	0,000
MM (% peso) M2	76,29 ± 6,54 77,10 (62,76 - 88,21)	70,13 ± 6,69 68,61 (60,20 - 80,53)	0,000

MM (% peso) M3	76,32 ± 6,59 77,52 (61,03 - 88,18)	69,96 ± 6,80 69,00 (59,05 - 80,73)	0,000
Média MM (% peso)	76,26 ± 6,51 77,45 (62,03 - 89,32)	70,08 ± 6,83 68,63 (60,81 - 80,15)	0,000
MG (% peso) M1	23,82 ± 6,70 22,58 (7,64 - 37,70)	29,77 ± 7,23 31,78 (18,50 - 39,57)	0,000
MG (% peso) M2	23,59 ± 6,54 22,82 (11,67 - 37,23)	29,83 ± 6,70 31,38 (19,46 - 39,80)	0,000
MG (% peso) M3	23,60 ± 6,59 22,48 (11,81 - 38,89)	29,98 ± 6,81 30,99 (19,13 - 40,94)	0,000
Média MG (% peso)	23,67 ± 6,48 22,44 (10,60 - 37,94)	29,86 ± 6,84 31,29 (19,80 - 39,13)	0,000
ACT (%) M1	73,06 ± 2,48 73,40 (65,90 - 77,60)	70,82 ± 2,89 70,60 (66,80 - 75,00)	0,000
ACT (%) M2	73,14 ± 2,34 73,80 (67,60 - 77,30)	70,85 ± 2,78 70,80 (66,40 - 74,70)	0,000
ACT (%) M3	73,17 ± 2,45 73,70 (66,90 - 79,50)	70,71 ± 2,70 70,30 (65,80 - 74,70)	0,000
Média ACT (% peso)	73,12 ± 2,38 73,67 (67,30 - 78,03)	70,79 ± 2,76 70,50 (66,90 - 74,67)	0,000

IMC: índice de massa corporal; CC: circunferência de cintura; MM: massa magra; MG: massa gorda; ACT: água corporal total; M1: momento 1; M2: momento 2; M3: momento 3; kg: quilograma; m²: metro ao quadrado; cm: centímetro; %: porcentagem.

A análise da ingestão habitual (QFA) mostrou que os participantes do cluster de melhor perfil metabólico (cluster 1) estavam ingerindo mais vitamina B2 e vitamina B6 quando comparados aos cluster 2 (Tabela 8).

Tabela 8 - Comparação da ingestão alimentar (avaliada por QFA) apresentada pelos indivíduos do cluster 1 e do cluster 2, de acordo com análise de ANCOVA (ajustado para idade, gênero, estadiamento puberal e ingestão energética). Os resultados estão apresentados em média $\pm$ desvio padrão da média e mediana (valor mínimo – valor máximo), de acordo com o período do estudo: momento 1 (“M1”), momento 2 (“M2”), momento 3 (“M3”).

Variável	Cluster 1 (n = 111)	Cluster 2 (n = 25)	P valor
Vit. B2 (mg/dia) M2	2,91 $\pm$ 0,78 2,79 (1,33 - 4,72)	2,66 $\pm$ 0,70 2,78 (1,66 - 3,82)	0,022
Vit. B2 (mg/dia) M3	1,46 $\pm$ 0,72 1,34 (0,25 - 4,43)	1,31 $\pm$ 0,56 1,24 (0,46 - 2,88)	0,012
Média Vit. B2 (mg/dia)	2,02 $\pm$ 0,63 1,92 (0,84 - 4,16)	1,81 $\pm$ 0,60 1,54 (1,06 - 3,24)	0,017
Vit. B6 (mg/dia) M3	1,12 $\pm$ 0,53 1,03 (0,21 - 3,02)	1,09 $\pm$ 0,46 0,93 (0,47 - 2,22)	0,044

QFA: questionário de frequência alimentar; Vit.: vitamina; M1: momento 1; M2: momento 2; M3: momento 3; mg: miligrama.

Houve melhores valores para o perfil lipídico, de glicemia, de PCR e ferro no cluster 1. UIBC e concentração de leucócitos foram estatisticamente maiores no cluster 2. O Volume corpuscular médio foi estatisticamente maior no cluster 1 (Tabela 9).

Tabela 9 – Comparação dos níveis séricos de metabólitos e suas médias apresentados pelos indivíduos do cluster 1 e do cluster 2 (proteína C reativa, capacidade latente de ligação do ferro, ferro, concentração de leucócitos e volume corpuscular médio), conforme análise de ANCOVA (ajustando para idade, gênero e estágio puberal), bem como comparação das médias dos metabólitos que serviram como critério para essa clusterização (ajustando para idade, gênero, estágio puberal e proteína C reativa). Os resultados estão apresentados em média $\pm$ desvio padrão da média e mediana (valor mínimo – valor máximo), de acordo com o período do estudo: momento 1 (“M1”), momento 2 (“M2”), momento 3 (“M3”).

Variável	Cluster 1 (n = 111)	Cluster 2 (n = 25)	P valor
Média Glicemia (mg/dl)	90,78 $\pm$ 5,37	94,48 $\pm$ 6,29	0,012

	90,67 (74,67 - 108,33)	94,67 (84,67 - 108,33)	
Média CT (mg/dl)	152,96 ± 23,09 154,00 (93,67 - 205,00)	183,92 ± 28,00 186,67 (109,00 - 238,67)	0,000
Média TG (mg/dl)	63,07 ± 20,05 59,67 (21,33 - 114,67)	131,88 ± 34,53 129,00 (75,00 - 220,33)	0,000
Média VLDL (mg/dl)	12,64 ± 4,02 12,00 (4,67 - 23,33)	26,39 ± 6,86 25,67 (15,67 - 44,00)	0,000
Média LDL (mg/dl)	93,99 ± 19,81 94,33 (46,67 - 136,67)	116,71 ± 25,41 113,00 (47,67 - 165,33)	0,000
Média HDL (mg/dl)	46,32 ± 9,07 46,33 (24,33 - 70,00)	40,87 ± 9,87 39,67 (27,67 - 64,67)	0,002
PCR (mg/dl) M1	0,12 ± 0,17 0,06 (0,00 - 1,02)	0,24 ± 0,23 0,18 (0,02 - 0,99)	0,005
PCR (mg/dl) M2	0,26 ± 0,48 0,07 (0,00 - 3,25)	0,46 ± 0,65 0,20 (0,01 - 2,77)	0,028
PCR (mg/dl) M3	0,19 ± 0,66 0,05 (0,00 - 6,73)	0,68 ± 1,56 0,26 (0,02 - 7,87)	0,027
Média PCR (mg/dl)	0,19 ± 0,29 0,09 (0,01 - 2,29)	0,46 ± 0,64 0,22 (0,03 - 3,02)	0,002
UIBC (mg/dl) M1	230,20 ± 44,63 227,00 (131,00 - 358,00)	263,96 ± 23,26 264,00 (228,00 - 310,00)	0,000
UIBC (mg/dl) M2	224,59 ± 46,31 223,00 (55,00 - 320,00)	257,32 ± 32,55 259,00 (210,00 - 350,00)	0,000
UIBC (mg/dl) M3	236,03 ± 44,32 236,00 (127,00 - 350,00)	267,36 ± 34,74 276,00 (197,00 - 330,00)	0,000
Média UIBC (mg/dl)	230,27 ± 38,90 226,67 (106,33 - 332,00)	262,88 ± 25,41 264,67 (214,67 - 316,67)	0,000

Ferro (µg/dl) M1	96,95 ± 29,57 94,00 (22,00 - 194,00)	81,24 ± 20,75 82,00 (49,00 - 117,00)	0,017
Ferro (µg/dl) M2	81,14 ± 31,96 76,00 (13,00 - 207,00)	69,36 ± 24,25 76,00 (14,00 - 109,00)	0,028
Média Ferro (mg/dl)	89,47 ± 21,86 85,67 (52,67 - 170,00)	77,00 ± 17,98 78,67 (44,00 - 115,00)	0,005
CL (células/ml) M1	6,68 ± 1,82 6,49 (3,32 - 13,80)	7,63 ± 2,04 7,50 (4,19 - 11,60)	0,006
CL (células/ml) M2	6,84 ± 2,78 6,55 (3,05 - 26,00)	7,85 ± 2,58 7,39 (2,95 - 12,70)	0,045
CL (células/ml) M3	6,89 ± 2,02 6,66 (3,77 - 17,80)	7,83 ± 2,51 7,26 (4,71 - 13,00)	0,018
Média CL (células/ml)	6,80 ± 1,75 6,75 (3,81 - 15,61)	7,77 ± 2,22 7,36 (4,02 - 11,77)	0,005
VCM (fL) M1	85,30 ± 3,36 85,40 (77,30 - 93,40)	82,90 ± 5,32 82,90 (71,00 - 93,70)	0,005
VCM (fL) M2	86,66 ± 3,32 87,00 (77,70 - 95,00)	84,22 ± 5,68 84,20 (71,10 - 94,60)	0,003
VCM (fL) M3	83,57 ± 3,23 83,90 (75,30 - 91,40)	81,11 ± 5,13 80,80 (69,80 - 90,90)	0,003
Média VCM (fL)	85,18 ± 3,25 85,30 (76,77 - 93,27)	82,74 ± 5,35 82,70 (70,87 - 92,97)	0,004

CT: colesterol total; TG: triglicerídeos; VLDL: VLDL colesterol (*very low density lipoprotein*); LDL: LDL colesterol (*low density lipoprotein*); HDL: HDL colesterol (*high density lipoprotein*); PCR: proteína C reativa; UIBC: capacidade latente de ligação do ferro; CL: concentração de leucócitos; VCM: volume corpuscular médio; M1: momento 1; M2: momento 2; M3: momento 3; mg: miligrama; dl: decilitro; ml: mililitro; fL: femtolitros.

A Tabela 10 mostra aumento de estatura e peso entre momentos porém sem diferença estatística para o IMC no cluster 1 ($p > 0,05$). Os dados de circunferência de cintura e de

composição corporal não se alteraram entre os momentos para participantes do cluster 1 ($p > 0,05$).

Tabela 10 – Análise longitudinal dos dados de antropometria apresentados pelos indivíduos do cluster 1 ($n = 111$), de acordo com análise de ANOVA para medidas repetidas, com ajuste para gênero, estadiamento puberal e idade, e análise de múltiplas comparações de Bonferroni.

Variável	M1	M2	M3
Altura (cm)	151,79 ± 9,70 ^{A, B} 152,60 (126,00 - 175,10)	152,68 ± 9,75 ^{A, C} 153,80 (127,00 - 176,60)	153,20 ± 9,69 ^{B, C} 154,70 (127,80 - 177,10)
Peso (kg)	45,92 ± 14,41 ^A 43,60 (23,95 – 97,75)	46,41 ± 14,47 ^A 43,65 (24,70 – 97,55)	46,71 ± 14,35 44,55 (25,40 - 97,55)

M1: momento 1; M2: momento 2; M3: momento 3; cm: centímetro; kg: quilograma.

Letras iguais: $p < 0,05$.

Participantes do cluster 2 também cresceram e aumentaram o peso entre os momentos, mas sem diferença em relação ao IMC ($p > 0,05$). Os dados de CC e de composição corporal não se alteraram entre os momentos para participantes do cluster 2 ($p > 0,05$). (Tabela 11).

Tabela 11 – Análise longitudinal dos dados de antropometria apresentados pelos indivíduos do cluster 2 ($n = 25$), de acordo com análise de ANOVA para medidas repetidas, com ajuste para gênero, estadiamento puberal e idade, e análise de múltiplas comparações de Bonferroni.

Variável	M1	M2	M3
Altura (cm)	154,16 ± 7,95 ^{A, B} 152,90 (139,60 - 175,90)	154,87 ± 7,91 ^{A, C} 153,55 (139,90 - 176,40)	155,53 ± 7,81 ^{B, C} 153,70 (141,20 - 176,70)
Peso (kg)	59,97 ± 21,68 ^{A, B} 55,85 (29,20 - 123,15)	60,57 ± 21,92 ^A 56,30 (29,30 – 124,45)	61,27 ± 21,47 ^B 56,70 (30,25 - 124,80)

M1: momento 1; M2: momento 2; M3: momento 3; cm: centímetro; kg: quilograma.

Letras iguais: $p < 0,05$.

A avaliação longitudinal da ingestão habitual (QFA) no cluster 1 mostra redução da ingestão de energia, carboidrato, proteína, lipídio, do M1 para M2 e M3; redução do consumo de colesterol do M1 ao M3 e redução do consumo de fibras do M1 para M2. Encontramos resultados estatísticos consistentes com o período de suplementação e *wash out* para a maioria das vitaminas e minerais suplementados (Tabela 12).

Tabela 12 – Análise longitudinal dos dados de ingestão alimentar (avaliada por QFA) apresentados pelos indivíduos do cluster 1 (n = 111), de acordo com análise de ANOVA para medidas repetidas, com ajuste para gênero, estadiamento puberal, idade e ingestão de energia, e análise de múltiplas comparações de Bonferroni.

Variável	M1	M2	M3
E (kcal/dia)	2205,68 ± 843,69 ^{A, B} 2082,00 (700 - 5562)	1802,24 ± 654,84 ^A 1698,00 (521,00- 4005,00)	1711,40 ± 674,56 ^B 1570,00 (690 – 3911)
CHO (g/dia)	290,58 ± 120,57 ^{A, B} 257,11 (90,79 - 768,74)	243,00 ± 104,59 ^{A, C} 217,29 (51,54 - 698,92)	223,95 ± 102,52 ^{B, C} 204,17 (77,78 - 651,92)
LIP (g/dia)	82,60 ± 35,18 ^{A, B} 77,33 (23,68 - 249,85)	65,96 ± 25,98 ^A 60,85 (23,97 - 167,00)	64,10 ± 24,92 ^B 60,11 (22,87 - 166,11)
GS (g/dia)	24,02 ± 10,02 ^{A, B} 22,60 (6,93 - 61,35)	18,44 ± 6,99 ^A 17,68 (5,96 - 38,79)	18,38 ± 8,61 ^B 17,31 (6,51 - 58,74)
Col (mg/dia)	234,87 ± 132,49 ^A 207,11 (72,35 - 991,11)	195,09 ± 108,30 182,18 (36,35 - 551,03)	180,38 ± 98,41 ^A 163,99 (30,68 - 574,55)
PTN (g/dia)	75,11 ± 32,75 ^{A, B} 69,49 (28,73 - 264,30)	62,10 ± 32,22 ^A 57,66 (16,97 - 293,67)	59,65 ± 25,63 ^B 53,71 (14,16 - 164,74)
Fibra (g/dia)	21,19 ± 10,54 ^A 19,31 (5,24 - 67,27)	18,31 ± 8,15 ^A 17,46 (2,77 - 44,82)	18,19 ± 8,63 18,04 (3,14 - 52,03)
Vit.A (µg/dia)	446,59 ± 330,03 ^{A, B} 384,17 (52,01 - 2773,96)	1043,07 ± 322,44 ^{A, C} 966,85 (590,73 - 2439,90)	393,29 ± 337,55 ^{B, C} 280,27 (20,91 - 2621,24)

Vit.D (µg/dia)	3,33 ± 2,75 ^A 2,70 (0,00 - 19,80)	6,43 ± 2,06 ^{A, B} 5,91 (3,40 - 13,41)	3,07 ± 2,19 ^B 2,38 (0,03 - 12,10)
Vit.C (mg/dia)	125,54 ± 133,33 ^A 82,10 (9,11 - 782,71)	143,97 ± 106,53 ^B 107,99 (50,24 - 647,75)	78,21 ± 86,68 ^{A, B} 53,46 (1,73 - 505,96)
Folato (µg/dia)	112,14 ± 97,00 ^{A, B} 96,15 (7,04 - 911,88)	246,19 ± 65,84 ^{A, C} 237,48 (136,58 - 580,51)	91,35 ± 61,05 ^{B, C} 82,05 (5,29 - 499,92)
Vit.B1(mg/dia)	1,47 ± 0,82 ^{A, B} 1,28 (0,36 - 5,78)	2,34 ± 0,64 ^{A, C} 2,23 (1,15 - 4,87)	1,17 ± 0,56 ^{B, C} 1,06 (0,37 - 4,02)
Vit.B2 (mg/dia)	1,69 ± 0,86 ^{A, B} 1,52 (0,14 - 5,93)	2,91 ± 0,78 ^{A, C} 2,79 (1,33 - 4,72)	1,46 ± 0,72 ^{B, C} 1,34 (0,25 - 4,43)
Vit.B3 (mg/dia)	20,14 ± 11,87 ^A 18,47 (5,15 - 85,72)	30,62 ± 7,98 ^{A, B} 29,24 (18,05 - 59,25)	16,49 ± 7,89 ^B 15,57 (4,49 - 37,69)
Vit.B6(mg/dia)	1,39 ± 0,73 ^{A, B} 1,24 (0,37 - 5,63)	2,79 ± 0,65 ^{A, C} 2,73 (1,53 - 5,01)	1,12 ± 0,53 ^{B, C} 1,03 (0,21 - 3,02)
Vit.B12(µg/dia)	2,88 ± 1,72 ^A 2,58 (0,35 - 11,02)	2,92 ± 1,30 ^B 2,63 (0,96 - 7,10)	2,36 ± 1,24 ^{A, B} 2,17 (0,18 - 6,58)
Ca (mg/dia)	753,33 ± 399,59 ^A 691,32 (211,95- 3167,77)	864,03 ± 285,85 ^B 801,24 (360,94 - 1717,04)	585,66 ± 297,19 ^{A, B} 522,95 (130,82- 1982,05)
Ferro (mg/dia)	10,75 ± 6,14 ^{A, B} 9,62 (3,57 - 57,19)	13,95 ± 4,35 ^{A, C} 13,22 (6,00 - 30,39)	8,28 ± 4,03 ^{B, C} 7,60 (1,85 - 25,69)
Mg (mg/dia)	275,09 ± 115,03 ^{A, B} 259,64 (67,49 - 639,28)	337,18 ± 107,02 ^{A, C} 325,84 (150,79 - 693,81)	229,71 ± 103,42 ^{B, C} 205,03 (49,62 - 626,72)
P (mg/dia)	1044,02 ± 411,40 ^A 979,30 (307,26- 2944,60)	1037,49 ± 323,97 ^B 1001,13 (370,01- 1851,92)	855,71 ± 342,60 ^{A, B} 825,26 (196,80- 1897,63)

Zn (mg/dia)	10,44 ± 4,50 ^{A, B}	13,29 ± 3,52 ^{A, C}	8,36 ± 3,43 ^{B, C}
	9,40 (3,07 - 27,93)	12,87 (6,51 - 23,96)	7,72 (2,86 - 19,24)

QFA: questionário de frequência alimentar; E: energia total; CHO: carboidrato; LIP: lipídeo; GS: gordura saturada; Col: colesterol; PTN: proteína; Vit.: vitamina; Mg: magnésio; P: fósforo; Zn: zinco; Ca: cálcio; M1: momento 1; M2: momento 2; M3: momento 3; kcal: quilocaloria; g: grama; mg: miligrama; µg: micrograma.

Letras iguais: $p < 0,05$.

Encontrou-se diminuição da ingestão de gordura saturada do M1 para o M2 e resultados estatísticos consistentes com o período de suplementação e *wash out* para a maioria das vitaminas e minerais suplementados no cluster 2 (Tabela 13).

Tabela 13 – Análise longitudinal dos dados de ingestão alimentar (avaliada por QFA) apresentados pelos indivíduos do cluster 2 (n = 25), de acordo com análise de ANOVA para medidas repetidas, com ajuste para gênero, estadiamento puberal, idade e ingestão energética, e análise de múltiplas comparações de Bonferroni.

Variável	M1	M2	M3
GS (g/dia)	23,74 ± 11,95 ^A 20,20 (10,94 - 59,48)	19,16 ± 11,86 ^A 15,37 (8,67 - 67,25)	20,35 ± 16,80 17,13 (0,30 - 93,86)
Vit.A (µg/dia)	351,92 ± 201,46 ^A 301,55 (72,94 - 930,06)	1038,62 ± 411,24 ^{A, B} 995,83 (600,61 - 2566,45)	358,66 ± 188,49 ^B 379,13 (93,29 - 750,47)
Vit.D (µg/dia)	2,54 ± 2,21 ^A 1,58 (0,13 - 8,35)	6,07 ± 1,73 ^{A, B} 5,81 (3,41 - 9,58)	2,42 ± 1,46 ^B 2,23 (0,17 - 4,99)
Folato (µg/dia)	89,16 ± 49,76 ^A 77,09 (23,14 - 240,30)	260,44 ± 101,05 ^{A, B} 242,98 (140,20 - 640,94)	88,38 ± 49,33 ^B 76,18 (12,31 - 204,60)
Vit.B1 (mg/dia)	1,29 ± 0,47 ^A 1,15 (0,45 - 2,72)	2,34 ± 0,67 ^{A, B} 2,36 (1,28 - 3,66)	1,24 ± 0,50 ^B 1,14 (0,53 - 2,77)
Vit.B2 (mg/dia)	1,45 ± 0,78 ^A 1,26 (0,44 - 3,38)	2,66 ± 0,70 ^{A, B} 2,78 (1,66 - 3,82)	1,31 ± 0,56 ^B 1,24 (0,46 - 2,88)
Vit.B3 (mg/dia)	18,36 ± 5,57 ^A 17,56 (7,89 - 27,46)	30,44 ± 8,66 ^{A, B} 28,18 (19,95 - 58,97)	16,74 ± 7,05 ^B 14,53 (5,52 - 32,60)
Vit.B6 (mg/dia)	1,31 ± 0,54 ^A	2,85 ± 0,74 ^{A, B}	1,09 ± 0,46 ^B

	1,30 (0,43 - 2,52)	3,09 (1,67 - 4,38)	0,93 (0,47 - 2,22)
Ferro (mg/dia)	10,09 ± 5,21 ^A 8,79 (3,60 - 28,39)	15,03 ± 5,59 ^{A, B} 13,86 (6,75 - 29,83)	9,66 ± 7,40 ^B 7,25 (2,93 - 41,87)
Mg (mg/dia)	258,51 ± 91,82 ^A 244,08 (93,22 - 480,70)	363,87 ± 134,33 ^{A, B} 332,11 (182,83 - 702,06)	234,57 ± 97,04 ^B 201,06 (82,08 - 469,77)
P (mg/dia)	989,51 ± 344,04 ^A 883,34 (421,31 - 1795,66)	1030,40 ± 419,93 942,22 (589,43 - 2366,95)	861,15 ± 286,94 ^A 791,17 (411,77 - 1457,66)
Zn (mg/dia)	10,24 ± 4,99 ^A 9,81 (4,10 - 27,60)	14,61 ± 5,50 ^{A, B} 13,48 (7,25 - 33,05)	9,10 ± 3,35 ^B 8,52 (4,60 - 16,03)

QFA: questionário de frequência alimentar; GS: gordura saturada; Vit.: vitamina; Mg: magnésio; P: fósforo; Zn: zinco; M1: momento 1; M2: momento 2; M3: momento 3; kcal: quilocaloria; g: grama; mg: miligrama; µg: micrograma.

Letras iguais: $p < 0,05$.

A análise longitudinal no cluster 1 mostrou que a albumina reduziu ao longo do estudo. Os valores para colesterol total e LDL diminuíram ao longo do estudo. Os valores de glicemia diminuíram do momento 1 para o momento 2, porém PCR aumentou no momento 2. Ferro sérico e hemoglobina diminuíram no momento 2 e aumentaram no momento 3 enquanto que o VCM apresentou padrão inverso (Tabela 14).

Tabela 14 – Análise longitudinal dos dados bioquímicos apresentados pelos indivíduos do cluster 1 (n = 111), de acordo com análise de ANOVA para medidas repetidas, com ajuste para gênero, estadiamento puberal e idade, e análise de múltiplas comparações de Bonferroni. As análises para glicemia e perfil lipídico também foram corrigidas para ingestão energética, de carboidrato e de lipídio e proteína C reativa.

Variável	M1	M2	M3
Albumina (g/dl)	4,55 ± 0,19 ^{A, B} 4,50 (3,90 - 5,00)	4,49 ± 0,17 ^A 4,50 (3,90 - 4,80)	4,48 ± 0,14 ^B 4,50 (4,10 - 4,80)
Glicemia (mg/dl)	92,50 ± 8,04 ^A 91,00 (76,00 - 136,00)	89,63 ± 5,84 ^A 90,00 (73,00 - 104,00)	90,20 ± 5,73 90,00 (74,00 - 103,00)

CT (mg/dl)	157,68 ± 26,66 ^{A, B} 157,00 (74,00- 225,00)	150,62 ± 23,76 ^A 152,00 (88,00- 201,00)	150,59 ± 24,56 ^B 151,00 (85,00- 212,00)
LDL (mg/dl)	98,43 ± 22,29 ^{A, B} 98,00 (38,00 - 159,00)	91,42 ± 19,89 ^A 91,00 (44,00 - 136,00)	92,11 ± 21,28 ^B 90,00 (41,00 - 136,00)
PCR (mg/dl)	0,12 ± 0,17 ^A 0,06 (0,00 - 1,02)	0,26 ± 0,48 ^A 0,07 (0,00 - 3,25)	0,19 ± 0,66 0,05 (0,00 - 6,73)
Ferro (µg/dl)	96,95 ± 29,57 ^A 94,00 (22,00 - 194,00)	81,14 ± 31,96 ^{A, B} 76,00 (13,00 - 207,00)	90,32 ± 31,20 ^B 85,00 (23,00 - 178,00)
Hb (g/dl)	13,83 ± 0,92 ^A 13,90 (10,40 - 15,90)	13,54 ± 0,83 ^{A, B} 13,60 (10,80 - 15,80)	13,82 ± 0,88 ^B 13,80 (11,30 - 15,80)
VCM (fL)	85,30 ± 3,36 ^{A, B} 85,40 (77,30 - 93,40)	86,66 ± 3,32 ^{A, C} 87,00 (77,70 - 95,00)	83,57 ± 3,23 ^{B, C} 83,90 (75,30 - 91,40)

CT: colesterol total sérico; LDL: LDL colesterol (*low density lipoprotein*); PCR: proteína C reativa; Hb: hemoglobina; VCM: volume corpuscular médio; M1: momento 1; M2: momento 2; M3: momento 3; g: grama; dl: decilitro; mg: miligrama; µg: micrograma; fL: fentolitro.

Letras iguais: $p < 0,05$.

A tabela 15 mostra a análise longitudinal dos dados bioquímicos no cluster 2. O colesterol total e LDL diminuíram ao longo do estudo. A PCR aumentou ao longo do estudo. O ferro sérico diminuiu do momento 1 para o momento 2. O VCM aumentou no momento 2 e diminuiu no momento 3.

Tabela 15 – Análise longitudinal dos dados bioquímicos apresentados pelos indivíduos do cluster 2 (n = 25), de acordo com análise de ANOVA para medidas repetidas, com ajuste para gênero, estadiamento puberal e idade, e análise de múltiplas comparações de Bonferroni. As análises para glicemia e perfil lipídico também foram corrigidas para ingestão energética, de carboidrato e de lipídio e proteína C reativa.

Variável	M1	M2	M3
CT (mg/dl)	195,40 ± 31,45 ^{A, B} 204,00 (112 - 251,00)	180,64 ± 28,64 ^A 178,00 (119 - 233,00)	175,72 ± 29,28 ^B 176,00 (96 - 232,00)

LDL (mg/dl)	129,80 ± 27,41 ^{A, B} 127,00 (62 - 180,00)	108,24 ± 29,33 ^A 104,00 (27 - 151,00)	112,08 ± 26,01 ^B 104,00 (54 - 165,00)
PCR (mg/dl)	0,24 ± 0,23 ^{A, B} 0,18 (0,02 - 0,99)	0,46 ± 0,65 ^A 0,20 (0,01 - 2,77)	0,68 ± 1,56 ^B 0,26 (0,02 - 7,87)
Ferro (µg/dl)	81,24 ± 20,75 ^A 82,00 (49,00 - 117,00)	69,36 ± 24,25 ^A 76,00 (14,00 - 109,00)	80,40 ± 29,43 75,00 (29,00 - 146,00)
VCM (fL)	82,90 ± 5,32 ^{A, B} 82,90 (71,00 - 93,70)	84,22 ± 5,68 ^{A, C} 84,20 (71,10 - 94,60)	81,11 ± 5,13 ^{B, C} 80,80 (69,80 - 90,90)

CT: colesterol total sérico; LDL: LDL colesterol (*low density lipoprotein*); PCR: proteína C reativa; VCM: volume corpuscular médio; M1: momento 1; M2: momento 2; M3: momento 3; g: grama; dl: decilitro; mg: miligrama; µg: micrograma; fL: fentolitro.

Letras iguais: p < 0,05.

DISCUSSÃO

O presente estudo mostrou que o grupo metabólico 1 apresentou melhor perfil lipídico e glicêmico quando comparado ao grupo metabólico 2. Além disso, apesar das diferenças entre esses dois grupos metabólicos, ambos tiveram uma redução significativa do colesterol total e do LDL após a suplementação de multi-micronutrientes e após correções para variáveis como idade, gênero, estadiamento puberal e ingestão de energia, de carboidrato e de lipídio. Houve também uma redução significativa da glicemia após a suplementação no cluster 1 e também após múltiplas correções estatísticas. A suplementação de multi-micronutrientes foi adequada nos dois clusters, com aumento significativo para a maioria das vitaminas e minerais do M1 para o M2 e posterior redução significativa do M2 para o M3.

A amostra analisada no presente estudo apresentou, em média, prevalência de 9,6% de magreza ou magreza grave (déficit de peso), 24,3% de sobrepeso e 24,3% de obesidade. Dados da última Pesquisa de Orçamento Familiar no Brasil, revelaram que em crianças de 5 a 9 anos de idade, a prevalência de déficit de peso é de 4,1%; de sobrepeso é de 33,5% e de obesidade é de 14,3%; e nos adolescentes de 10 a 19 anos, a prevalência de déficit de peso é de 3,4%; de sobrepeso é de 20,5% e de obesidade é de 4,9% (POF 2008-2009). Mas, ao compararmos estes dados com os obtidos após o agrupamento dos participantes do presente estudo conforme seu perfil bioquímico, observamos que o cluster 1 teve maior prevalência de déficit de peso (10,8%) e o cluster 2 maior prevalência de obesidade (56%) em relação à POF 2008-2009.

Em algumas cidades brasileiras o sobrepeso e a obesidade já atingem 30% ou mais das crianças e adolescentes, incluindo Recife, com 35% dos escolares avaliados com algum grau de sobrepeso (Balaban & Silva, 2001). Enquanto em outras, como Salvador, a prevalência de obesidade foi de 15,8% (Souza Leão et al, 2003). Dados semelhantes podem ser verificados em um estudo desenvolvido em Santos, estado de São Paulo. Neste trabalho, de 10.821 escolares da rede pública e privada, de 7 a 10 anos de idade, 15,7% apresentavam sobrepeso e 18,0% apresentavam obesidade (Costa e colaboradores, dados em publicação).

A comparação dos resultados da POF 2008-2009 com os de inquéritos anteriores confirma a tendência de declínio da subnutrição infantil no país, observada desde a década de 1980, e do aumento da obesidade em todas as idades, a partir dos 5 anos. Análises recentes sobre a tendência secular da subnutrição infantil no Brasil indicam que o declínio do problema ocorreu associado as melhorias observadas no poder aquisitivo das famílias de menor renda, na escolaridade das mães e na cobertura de serviços básicos de saúde e

saneamento, aspectos esses que vêm sendo observados a partir da evolução anual dos resultados da Pesquisa Nacional por Amostra de Domicílios (PNAD, 2008).

No presente estudo, a maioria dos indivíduos analisados pertencia a famílias com renda mensal que variava de R\$ 1541,00 à R\$ 2565,00. Matijasevich e colaboradores analisaram a associação do excesso de peso com a posição sócio econômica de adolescentes do Brasil e do Reino Unido, e concluíram que o padrão social do IMC varia entre as populações e também dentro das mesmas ao longo do tempo (Matijasevich et al, 2009). De acordo com dados do IBGE de 2008-2009, a maioria da população brasileira apresenta renda mensal familiar *per capita* entre mais de meio salário mínimo e dois salários mínimos, sendo que a prevalência de obesidade é alta em todos os grupos de renda do país (POF 2008-2009).

Sabe-se que a incidência do excesso de peso em crianças e adolescentes tem aumentado não só no Brasil, mas na maior parte dos países, e tem-se traduzido em um dos mais significativos problemas nutricionais da atualidade (Marins et al, 2002; Wang, Monteiro, Popkin, 2002). Sabe-se também que quanto mais prevalente se torna a obesidade, maior o estímulo para se estudar os grupos populacionais vulneráveis ao problema, em que se possam levantar novas hipóteses, modelos de estudo e estratégias de tratamento relacionadas à essa patologia (Magalhães, Azevedo, Mendonça, 2003).

Entretanto, em várias pesquisas relacionadas à obesidade, observa-se o mesmo padrão metodológico: os indivíduos são agrupados de acordo com seu estado nutricional (IMC). No presente estudo, inicialmente também tentou-se agrupar os indivíduos conforme seu IMC, porém essa abordagem não gerou grupos diferentes estatisticamente quanto aos demais parâmetros analisados. Em um trabalho realizado no estado do Paraná, Brasil, 92 adolescentes de 10 a 17 anos também foram divididos em grupos de acordo com seu IMC para verificar seus perfis antropométrico, lipídico e glicêmico e foi encontrada baixa correlação entre IMC e glicemia, hipercolesterolemia, hipertrigliceridemia, LDL, VLDL e HDL (Honorato, 2010). Tais resultados mostram que a utilização do IMC como critério para separação dos grupos de estudo apresenta limitações e talvez não seja o método mais adequado para diferenciação dos mesmos em todas as situações de pesquisa da área de nutrição, o que evidencia a importância de se tentar utilizar outro tipo de abordagem nos estudos.

Diante disso, no presente trabalho o perfil bioquímico apresentado pelos participantes nos três momentos da pesquisa foi utilizado como critério de separação dos grupos de estudo, o que foi possível por meio do teste estatístico “K-means clustering”, aqui referido como “K- cluster”.

A técnica estatística K-cluster trata-se da tarefa de agrupar indivíduos (ou objetos) de maneira que são colocados no mesmo grupo (ou cluster) os sujeitos que são semelhantes

em um ou mais sentidos. Tal procedimento é útil para pesquisas em que se deseja encontrar grupos internamente coesos (isto é, com indivíduos similares uns aos outros) e externamente isolados (ou seja, com os indivíduos de um grupo diferentes dos indivíduos dos outros grupos) (Steinley & Brusco, 2011) e esta técnica tem sido utilizada em diversos estudos (Carpenter, Liu & Hasin, 2006; Hwang, Dillon, & Takane, 2006; Ryan, Martin, & Brooks-Gunn, 2006; Brusco, 2004; Brusco & Cradit, 2001; de Craen, Commandeur, Frank, & Heiser, 2006; Steinley, 2003, 2004, 2006b).

No método K-cluster se parte de todos os dados analisados e se procura uma forma de classificá-los em classes homogêneas, com base na similaridade de suas variáveis (Bailey, 1994; Estivill-Castro, 2002). Assim, essa abordagem é capaz de mostrar a heterogeneidade entre as respostas analisadas (Steinley & Brusco, 2011). Tal aspecto era de interesse no presente trabalho, e a partir desse método foi possível separar os participantes em grupos com características metabólicas opostas (clusters 1 e 2), sendo que para todas as variáveis do perfil bioquímico analisadas os testes de anova e ancova mostraram diferenças estatísticas significativas entre esses dois grupos de indivíduos.

Torna-se relevante ressaltar que neste processo consideramos primeiro as respostas que os indivíduos apresentaram nos três momentos do estudo (ou seja, seus níveis séricos de CT, LDL, VLDL, HDL, TG e glicemia no M1, M2 e M3) para, posteriormente, formar os grupos, portanto trata-se de uma abordagem que valoriza a resposta individual; e que, a partir dessa clusterização, foi possível encontrar outras características que também eram diferentes entre esses grupos (antropometria, composição corporal, consumo alimentar e dosagens laboratoriais).

Sabe-se que o nível de atividade física praticado pelos indivíduos pode estar relacionado à essas características (Iannotti & Wang, 2013; Laguna et al, 2013; Meucci et al, 2013; Pate et al, 2013), por isso se fez importante a investigação desse parâmetro no presente estudo. Entretanto, a prática de atividade física não diferiu entre os clusters 1 e 2, dessa forma, essa variável não pode explicar as diferenças encontradas entre esses grupos metabólicos. Isso mostra a possibilidade de outras associações, como a de cada cluster com perfis específicos de expressão de proteínas, de genotipagem e também de associação com outros grupos metabólicos.

Neste estudo, o perfil bioquímico relacionado à glicemia e aos lipídios foi escolhido como critério para separação dos clusters devido à importância de se monitorar o lipidograma e a glicemia de crianças e adolescentes. Estudiosos vêm alertando para a ascendência das dislipidemias nessa faixa etária, e, embora no Brasil não existam dados epidemiológicos referentes à prevalência desse agravo cobrindo todo o território nacional (Alcantara et al, 2012), estudos pontuais em crianças e adolescentes têm mostrado prevalências de dislipidemia oscilando entre 3,1% a 46,5% (Carvalho et al, 2007; Coronelli &

Moura, 2003; Franca & Alves, 2006; Grillo et al, 2005; Moura et al, 2000; Pereira et al, 2009; Ribas & Silva, 2009; Romaldini et al, 2008; Santos et al, 2008; Seki et al, 2007). De acordo com as Diretrizes da Sociedade Brasileira de Diabetes (2009), uma epidemia de diabetes mellitus está em curso. Em 2030 o número de diabéticos no mundo pode chegar a 300 milhões e há crescente proporção de pessoas afetadas em grupos etários mais jovens. Trabalho desenvolvido na cidade de Ribeirão Preto-SP mostrou a prevalência de 12,1% de diabetes na população adulta (Torquato et al, 2003).

Pesquisas atuais mostram que o processo aterosclerótico e os distúrbios na homeostase da glicose podem começar a se desenvolver já na infância (Santos et al, 2008). Diversos estudos demonstram que a associação de fatores como dislipidemia, alterações glicêmicas e excesso de peso na infância e adolescência se correlaciona com doenças crônicas não transmissíveis e outros distúrbios, como esteatose hepática não alcoólica, no futuro desses indivíduos (Rosini et al, 2013; Kashyap et al, 2009; Lawlor et al, 2010; Juonala et al, 2011; Gröber-Grätz et al, 2013; Srinivasan et al, 1996; Herouvi, 2013; Beauloye et al, 2007; Skilton & Celermajer, 2006; Chioloro et al, 2007; Magnussen et al, 2010).

Dessa forma, os exames bioquímicos (biomarcadores) aqui escolhidos como forma de diferenciar os grupos de estudo poderiam auxiliar na avaliação de risco, no diagnóstico e no acompanhamento nutricional desses indivíduos (Sociedade Brasileira de Pediatria, 2009; Ribas & Silva 2009); bem como no maior entendimento dos mecanismos associados às suas alterações.

É importante salientar que apesar dos clusters 1 e 2 serem diferentes quanto ao gênero, os parâmetros de estadiamento puberal, de classe econômica e de idade estavam bem distribuídos nos dois grupos, e embora entre eles a proporção dos gêneros tenha sido diferente, nas comparações de variáveis foi feita a correção para o fator sexo, isolando dessa forma a contribuição dessa variável de confusão.

Foi observado que os clusters 1 e 2 apresentam parâmetros de antropometria e de composição corporal opostos. O cluster 1, de melhor perfil bioquímico, também teve melhor peso, IMC, CC, MM, MG e ACT e maior porcentagem de indivíduos magros e eutróficos em comparação ao cluster 2, o qual, além de apresentar pior peso, IMC, CC, MM, MG e ACT, teve também mais sujeitos obesos do que o cluster 1.

Na China foi desenvolvido um estudo semelhante ao nosso, para investigar o status glicolipídico de adolescentes. Os pesquisadores perceberam que as variáveis analisadas se alteraram conforme o estado nutricional dos indivíduos, sendo que nos meninos os parâmetros que se alteraram foram CC, TG, LDL, HDL, e nas meninas, HDL e TG; e de forma geral, os indivíduos com excesso de peso tiveram também menor sensibilidade à insulina e maior prevalência de dislipidemia (Gong et al, 2013). Pedrozo e colaboradores (2010) avaliaram a prevalência de perfil lipídico anormal (em relação a CT, TG, HDL e LDL)

em 523 adolescentes de escolas da Argentina, e encontraram um perfil lipídico mais aterogênico nos adolescentes que apresentavam sobrepeso ou obesidade do que nos eutróficos ou magros (Pedrozo et al, 2010).

Tendo em vista que o IMC sozinho não reflete a distribuição de gordura corporal, Gröber-Grätz e colaboradores (2013) avaliaram qual seria o melhor preditor de dislipidemia e hipertensão em crianças e adolescentes com excesso de peso, se o IMC ou a CC. Este estudo analisou 5.978 pacientes da Alemanha, Áustria e Suíça e mostrou que o IMC é mais associado à hipertensão, enquanto a CC é mais associada à dislipidemia (Gröber-Grätz et al, 2013). Trabalho similar foi feito no estado de Santa Catarina, Brasil, no qual foi avaliado o uso da CC para detectar hiperglicemia e dislipidemia em 2.296 indivíduos de 6 a 14 anos. Neste estudo, semelhante ao que ocorreu no presente trabalho, os indivíduos com CC elevada exibiram hiperglicemia, altas concentrações de CT, TG e LDL e menores níveis de HDL colesterol, fatores de risco para as doenças crônicas não transmissíveis (Rosini et al, 2013).

Em estudo de 2013 foi identificada a presença do fenótipo de CC e TG aumentados e avaliada a associação do mesmo com anormalidades metabólicas em adolescentes (Conceição-Machado et al, 2013). A ocorrência simultânea CC e TG aumentados foi maior na presença de obesidade, de altos níveis de colesterol não-HDL, de LDL e de baixas concentrações de HDL, o que mostra que esse fenótipo se associa a um perfil lipídico aterogênico. Os autores sugerem ainda que esta associação de CC e TG aumentados seja usada no diagnóstico de adolescentes com alterações metabólicas (Conceição-Machado et al, 2013). Outro trabalho, investigando a relação entre a distribuição de gordura e as complicações metabólicas em crianças e adolescentes com obesidade, apresentou como preditor antropométrico para risco de complicações metabólicas o aumento da circunferência de cintura e concluiu que, assim como em adultos, a obesidade abdominal é o fator de risco mais relevante para síndrome metabólica na juventude (Firek-Pedras et al, 2006).

Diante desses trabalhos, percebe-se que a circunferência de cintura (CC) é importante para identificar excesso de peso em crianças e adolescentes (Hirschler et al, 2005), sendo bastante utilizada nessa faixa etária por apresentar facilidade de medida, associação consistente com fatores de risco (Freedman et al, 1999) e por aferir a distribuição centralizada do tecido adiposo (Ferreira et al, 2006), tendo em vista que a obesidade abdominal é mais preocupante que a localizada na parte inferior do corpo (Janssen, Katzmarzyk e Ross, 2002). E os valores médios de CC encontrados no presente trabalho estão de acordo com os de outras pesquisas. Fernandes e colaboradores (2009), por exemplo, encontraram para CC, em média, os valores de $70,3 \pm 10,1$ cm em meninos e $66,3 \pm 8,1$ cm em meninas; e em indivíduos eutróficos e nos com excesso de gordura

corporal, respectivamente: $63,4 \pm 5,7\text{cm}$ e $87,3 \pm 15,2\text{cm}$ nos meninos e $64,5 \pm 6,1\text{cm}$ e $79,9 \pm 5,1\text{cm}$ nas meninas.

Compreender o impacto da distribuição de gordura corporal no metabolismo dos ácidos graxos, na dislipidemia e nas alterações glicêmicas é fundamental para determinar a relação entre excesso de peso e risco de doença cardiovascular. Uma revisão recente mostrou que o excesso de gordura visceral está associado a problemas na supressão da liberação de ácidos graxos em resposta à insulina, à hipertrigliceridemia e a baixas concentrações de HDL; e que as altas concentrações de ácidos graxos podem induzir a resistência à insulina no músculo e no fígado (Ebbert & Jensen, 2013). Além disso, já está bem estabelecido na literatura que a falha da hiperinsulinemia em suprimir os ácidos graxos de uma maneira normal está associada também com diminuição da oxidação de carboidratos e do armazenamento de glicose no músculo, com redução da depuração hepática de insulina e com elevação dos triglicerídeos séricos (Boden et al, 1991; Hennes, Shrago & Kissebah, 1990; Kissebah et al, 1976). Tais considerações fundamentam os diferentes resultados apresentados pelos clusters 1 e 2.

Um outro achado de nosso estudo foi que o cluster 1 apresentou maior ingestão de riboflavina (vitamina B2) e de piridoxina (vitamina B6) do que o cluster 2. Sabe-se que tais vitaminas atuam como importantes coenzimas na produção de energia e em diversos processos metabólicos. A vitamina B2, por exemplo, age na oxidação de glicose para obter energia sob a forma de adenosina-5'-trifosfato e a B6 é um cofator requisitado para o metabolismo da homocisteína, sendo que esta tem sua concentração determinada pela concentração de B6, entre outros fatores (Martini et al, 2010). Além disso, a deficiência de riboflavina pode causar deficiência condicionada da vitamina B6 (Lakshmi, 1998).

Há muito tempo trabalhos já mostravam uma correlação entre concentração de homocisteína, CT, TG e IMC e que a suplementação de micronutrientes como piridoxina e riboflavina poderia contribuir para a redução dos níveis circulantes de homocisteína, CT, TG e LDL (Olszewski et al, 1989). A suplementação de altas doses de piridoxina foi capaz de diminuir os níveis de homocisteína, CT e TG em pacientes com doença renal crônica em estudo realizado em 2003, indicando que essa vitamina pode representar proteção contra a aterosclerose nesses pacientes (de Gómez Dumm, Giammona & Touced, 2003). Foi estudado também o efeito da suplementação conjunta de vitamina B2, B6, C, E, beta-caroteno, zinco, magnésio, sódio, potássio e cálcio em pacientes com doença cardiovascular, o que também promoveu mudanças positivas, como a redução de CT e TG (Tutellian et al, 2001).

Em 2011, um trabalho realizado para desenvolver um método de determinação sérica simultânea de tiamina e riboflavina mostrou que a concentração de vitamina B2 nos indivíduos obesos foi menor do que nos sujeitos controles saudáveis (Liu L, Sun C, Wang C,

Li, 2011). A concentração sérica de lipídeos e de vitaminas foi avaliada no sangue de 102 mulheres com excesso de peso, e foi observado menor concentração de vitaminas, incluindo as vitaminas B2 e B6, além de alto risco para dislipidemia e hipertensão nos indivíduos com excesso de peso analisados em comparação ao grupo controle (Moor, Wartanowicz & Ziemiański, 1992). Em relação à glicemia, um estudo mais antigo comparou o status de vitaminas e minerais no plasma de 100 diabéticos não dependentes de insulina ao de 112 indivíduos saudáveis pareados por idade e sexo, e as concentrações plasmáticas de piridoxina e de riboflavina foram menores nos indivíduos diabéticos (Havivi et al, 1991).

Utilizando dados de 9.660 indivíduos coletados no *National Health and Nutrition Examination Survey* 2001-2006, foram avaliados a ingestão vitamínica de crianças e adolescentes, bem como seu estado nutricional, de acordo com o teor de açúcar do cereal que eles consumiam. Este trabalho, assim como o presente estudo, mostrou indivíduos que apresentavam ao mesmo tempo menor IMC e maior consumo das vitaminas B2 e B6, o que revela uma possível associação entre menor peso e maiores níveis séricos de B2 e B6 (Albertson et al, 2011). Em estudo semelhante, foram analisados o perfil lipídico e a ingestão de micronutrientes de crianças e adolescentes que consumiam diferentes quantidades de cereais fortificados no café da manhã, mediante a utilização de dados de 1.688 indivíduos da pesquisa britânica *National Diet and Nutrition Survey of Young People*. A pesquisa demonstrou que os indivíduos que consumiam mais vitaminas do complexo B, incluindo B2 e B6, apresentavam também menor CT e LDL séricos (Gibson, 2003).

Ortega e colaboradores também estudaram a influência da ingestão de cereais fortificados por sujeitos de 9 a 13 anos, mesma faixa-etária de nosso trabalho, e encontraram que o grupo que apresentou maior ingestão de vitamina B6 e maior concentração sérica de vitamina B2 também teve menor porcentagem de indivíduos com hipercolesterolemia (Ortega et al, 1996). Esses dados sugerem a possibilidade de uma correlação entre o consumo de riboflavina e piridoxina e um melhor perfil lipídico.

Os clusters em estudo também diferiram em relação a outros parâmetros laboratoriais (além dos lipídeos e glicose séricos): o cluster 2 apresentou maiores concentrações de PCR, UIBC, concentração de leucócitos (CL) e menores níveis de ferro sérico e VCM que o cluster 1.

É importante a observação de que estes valores podem apenas estar indicando alguma resposta de fase aguda, pois, apesar de terem sido incluídos nesta pesquisa apenas indivíduos clinicamente estáveis e sem doença crônica previamente diagnosticada, durante as 12 semanas de estudo os mesmos podem ter adquirido alguma infecção, processo alérgico ou resfriado forte, por exemplo. Já está bem estabelecido na literatura que na resposta de fase aguda (resposta sistêmica do hospedeiro a um estímulo adverso) ocorrem alterações neuro-humorais, imunológicas e metabólicas, como aumento da síntese de

proteína C reativa, leucocitose, diminuição dos níveis de ferro e diminuição da eritropoiese (Monteiro et al, 2000; Trey & Kushner, 1995; Cunha et al, 1998a; Cunha et al, 1998b; Moldawer & Copeland, 1997).

Entretanto, há que se considerar que a literatura também tem correlacionado tais mudanças com pior perfil lipídico e glicêmico. Sabe-se que os pacientes com síndrome metabólica têm risco aumentado de desenvolver aterosclerose e doença cardiovascular, e nisso a inflamação tem um papel-chave, pois está envolvida com resistência insulínica e adiposidade. Estudos tem mostrado associação entre PCR elevada com resistência à insulina e com componentes da síndrome metabólica (Frohlich et al, 2000a,b; Han et al, 2002; Ford, 2003; Sattar et al, 2003; Kuller et al, 1996; Ridker et al, 1997, 2000; Trevisan et al, 1998; Isomaa et al, 2001).

Ademais, a PCR elevada também tem sido apontada como preditora de diabetes (Pradhan et al, 2001; Thorand et al, 2003). Gonza'lez e colaboradores (2006) observaram que a síndrome metabólica e a resistência insulínica estão associados a elevados níveis séricos de PCR, encontrando maiores concentrações de PCR em indivíduos com obesidade central e naqueles com hiperglicemia de jejum; aumento do número de características da síndrome metabólica com a elevação da concentração de PCR nos indivíduos analisados e PCR alta em pacientes com resistência insulínica. Tais autores concluem que a avaliação da existência de uma inflamação subclínica crônica nesses pacientes poderia ajudar na identificação dos indivíduos que precisam de uma intervenção mais agressiva contra fatores de risco cardiovasculares (Gonza'lez et al, 2006). No entanto, não parece ter sido esse o fator associado às alterações de glicemia e lipídios, uma vez que corrigimos os mesmos para proteína C-reativa.

O trabalho de Gonza'lez e colaboradores (2006) mostrou ainda associação entre elevados níveis séricos de ferritina com hipertrigliceridemia, hiperglicemia, síndrome metabólica e resistência insulínica. Tem aumentado as evidências mostrando que elevados estoques de ferro, avaliados pela ferritina sérica, possam estar associados a hipertensão, a dislipidemia, a hiperinsulinemia de jejum, a hiperglicemia de jejum e a obesidade central (Fernandez-Real et al, 1998; Sheu et al, 2003; Jehn et al, 2004; Jiang et al, 2004). De acordo com Gualandro e colaboradores (2000) a ferritina sérica aumentada pode coexistir com ferro sérico diminuído na chamada "anemia das doenças crônicas", a qual acompanha doenças inflamatórias e infecciosas.

As doenças crônicas podem causar esse tipo de anemia devido à depressão medular pela produção de citocinas inflamatórias, a uma leve diminuição da vida média dos glóbulos vermelhos e ao bloqueio na utilização do ferro no sistema reticuloendotelial (Gualandro et al, 2000). Trabalho que analisou níveis séricos de ferritina e outros indicadores de ferro orgânico como fatores de risco para doença arterial coronariana

encontrou maior nível de ferro sérico no grupo de indivíduos sem aterosclerose (Armaganijan & Batlouni, 2003). Nosso estudo também encontrou maiores níveis de ferro no cluster de melhor perfil glicídico e lipídico.

A aterosclerose é considerada uma doença inflamatória crônica iniciada por leucócitos em resposta à lesão endotelial (Ross, 1999). Trabalhos mostram que a concentração de leucócitos está positivamente relacionada à incidência e à mortalidade por doença cardiovascular (Danesh et al, 2000), bem como a fatores de risco cardiovasculares, como hiperlipidemia e resistência à insulina (Huang et al, 2001; Schmidt et al, 1999). Outros estudos mostram que os TG e glicose são capazes de induzir a ativação dos leucócitos (Wanten et al, 2001; Wanten et al, 2000). Alipour e colaboradores (2008) demonstraram que a hipertrigliceridemia aguda ativa leucócitos e que essa ativação é um mecanismo pro-inflamatório e pró-aterogênico alternativo da hipertrigliceridemia (Alipour et al, 2008).

Ademais, a obesidade é considerada por muitos como uma doença inflamatória sistêmica e a inflamação é um potencial mecanismo que liga a obesidade ao risco cardiometabólico aumentado (Tahergorabi & Khazaei, 2013; Phillips & Perry, 2013). Trabalho recente com adolescentes afro-americanos avaliou se obesidade, pressão arterial, resistência insulínica e marcadores inflamatórios (entre eles a PCR) estavam correlacionados e encontrou que marcadores inflamatórios e adipocinas estavam associados ao IMC (Gidding et al, 2013).

Em relação à origem da resposta inflamatória que leva à resistência insulínica na obesidade, um mecanismo inicial é a inibição da sinalização do receptor de insulina (Tahergorabi & Khazaei, 2013), outro mecanismo é que a sobrecarga de nutrientes nos adipócitos induz a estresse no retículo endoplasmático, o que leva à ativação de cascatas inflamatórias (Gregor, 2011). Além disso, uma expansão rápida e dinâmica do tecido adiposo leva à hipóxia (Rosen & MacDougald, 2006; Schenk, Saberi & Olefsky, 2008) e o metabolismo da glicose excedente pode levar a aumento na produção de espécies reativas de oxigênio na mitocôndria, o que também leva a ativação de vias inflamatórias e participa da inibição da sinalização de insulina (Lin et al, 2005; Furukawa et al, 2004).

Esses dados respaldam nossos resultados e sugerem que PCR, CL e ferro sérico podem ser, além de marcadores inflamatórios, também marcadores metabólicos.

Em relação ao comportamento dos parâmetros antropométricos dos participantes ao longo do estudo, observou-se que nos dois clusters houve aumento de peso e de estatura, porém sem alteração do IMC e das demais variáveis analisadas. Além disso, os dois clusters não tiveram mudança estatisticamente significativa em sua composição corporal. Dessa forma, apesar da literatura mostrar resultados diferentes, nossos achados indicam que a mudança do perfil metabólico (glicose e lípidos séricos) não necessariamente está relacionada a mudanças na composição corporal. Tais resultados mostram que

provavelmente a suplementação não tenha tido impacto nas variáveis antropométricas e de composição corporal, e o aumento de peso e altura podem estar refletindo simplesmente o crescimento normal desses indivíduos.

Longitudinalmente, a única diferença entre os grupos foi que o cluster 2 continuou ganhando peso no momento 3 quando relacionado ao momento 1, fato que não ocorreu com o cluster 1.

Paradoxalmente, os participantes do cluster 1 ganharam peso do primeiro para o segundo momento do estudo, entretanto, durante este período, diminuíram sua ingestão de energia e de macronutrientes e a atividade física não foi diferente entre os clusters. Em revisão recente, Skelton e colaboradores (2011) apontam que há várias situações nas quais as variações genéticas podem influenciar o controle neuroendócrino e o comportamento do peso de um indivíduo, e nas últimas décadas tem sido identificadas muitas contribuições genéticas para o ganho de peso independente da ingestão energética (Skelton et al, 2011). Além disso, existe uma grande variabilidade na resposta individual à menor ingestão energética.

O Mapa Genético da Obesidade Humana (2005), por exemplo, indicou 253 loci gênicos atribuídos à fenótipos de obesidade, com 127 genes candidatos (Rankinen, et al, 2006). Ademais, tem sido descoberto um número crescente de mutações genéticas relacionadas ao excesso de peso (Crocker & Yanovski, 2009; Farooqi, 2011; Farooqi et al, 2007; Farooqi, 2007). Os avanços genômicos estão proporcionando a identificação de importantes áreas de exploração (Skelton et al, 2011). O Projeto Genoma Humano e o subsequente desenvolvimento de ferramentas para a identificação de polimorfismos genéticos abriu uma nova era na análise gênica (Speakman, 2013), com extensão para a área da nutrição.

O GWAS - *Genome Wide Association Studies* - estudos de ampla associação do genoma - já identificaram mais de 40 SNPs (*Single Nucleotide Polymorphisms* - polimorfismos de nucleotídeos únicos) que mostram relação com o índice de massa corporal, sendo que 8 dessas associações foram confirmadas (Day & Loos, 2011; Speakman, 2013). Os estudos do GWAS abordam a obesidade associando a variação em SNPs com variações no IMC dos indivíduos (Okada et al, 2012; Paternoster et al, 2012; Speliotes et al, 2010; Wen et al, 2012; Willer et al, 2009). A forma com que um indivíduo vai reagir à presença destes polimorfismos e da interação deles com a dieta é uma nova área de investigação dentro da ciência da nutrição. O presente estudo vai investigar as associações de diferentes polimorfismos com os dois grupos metabólicos aqui formados, em projeto futuro.

De acordo com Weise e colaboradores (2013), os mecanismos subjacentes à regulação da homeostase energética e da ingestão de alimentos ainda não são bem

compreendidos. Um bom exemplo é o de um trabalho desenvolvido na China, que mostrou que indivíduos com síndrome metabólica apresentavam menor ingestão de energia e de carboidratos em comparação aos indivíduos controles, e ainda assim apresentavam a patologia, bem como um pior estado antioxidante (Li et al, 2013).

Esses dados mostram que o ganho de peso pode não ser proveniente apenas da maior ingestão de energia (e de macronutrientes) por parte de um indivíduo. É possível que o aumento do peso seja devido a outros fatores, como a relação gene-nutriente e as variações genéticas individuais. Além disso, é preciso considerar que apesar da influência do estadiamento puberal dos participantes ter sido corrigida nas comparações estatísticas, esses indivíduos podem encontrar-se em fase de crescimento, o que pode explicar o aumento de peso e de estatura encontrado.

No presente estudo, os dois clusters mostraram ingestão de micronutrientes compatível com o período de suplementação e com o período de *wash out* para a maioria das vitaminas e minerais suplementados, ou seja, houve aumento significativo do consumo desses micronutrientes do primeiro para o segundo momento e posterior redução significativa de sua ingestão do segundo para o terceiro momento do estudo. Tal achado demonstra que nossa suplementação foi adequada. E a literatura mostra que a ingestão desses micronutrientes pode melhorar o perfil lipídico e glicídico.

Em modelos animais a ingestão de vitamina E ajudou na redução da progressão da hipercolesterolemia induzida por estresse oxidativo no fígado e no coração e melhorou as funções desses órgãos (Abbas & Sakr, 2013); e o uso de suplementação das vitaminas A, C e E mostrou efetividade na prevenção da aterosclerose (Ozkanlar & Akcay, 2012). A vitamina E tem mostrado redução da oxidação do LDL, diminuindo a capacidade dos monócitos se ligarem às células endoteliais, e diminuição da expressão de E-selectina, importante fator no desenvolvimento de aterotrombose inflamatória, sendo que o aumento da ingestão de vitamina E poderia ajudar a prevenir a doença coronariana (Ozkanlar & Akcay, 2012; Faruqi, de la Motte & DiCorleto, 1994; Devaraj, Li & Jialal, 1996; Bowry, Ingold & Stocker, 1992; Kushi et al, 1996).

A ingestão de vitamina C foi associada a efeitos anti-inflamatórios e à menor disfunção endotelial (Wannamethee et al, 2006). Em outro trabalho, diferentes doses de suplementação de vitamina D são sugeridas na prevenção do risco cardiometabólico em crianças e adolescentes saudáveis (Salo & Logomarsino, 2011). Em crianças e adolescentes obesos e com síndrome metabólica, a suplementação de vitamina D diminuiu a concentração de TG e de insulina e a resistência insulínica, quando comparado ao início do estudo e ao grupo placebo (Kelishadi et al, 2013). Em outros trabalhos, como o de Sohn, Kim & Bae (2012), indivíduos que apresentavam maior adequação na ingestão de fósforo, ferro, vitamina A, B1, B3, B6 e C também tinham menor risco cardiovascular. Esses dados

mostram que o consumo dos micronutrientes utilizados em nossa intervenção se relaciona a melhor perfil glicolipídico.

Embora a intervenção aplicada no presente estudo tenha sido mais eficiente no cluster 1, para o cluster 2 ela também foi adequada. Entretanto, no cluster 2 ela parece não ter ajudado na melhora da glicemia do momento 1 para o momento 2. De acordo com revisão recente, existem diferenças na suscetibilidade à obesidade entre os indivíduos, o que se evidencia quando os sujeitos são expostos ao mesmo ambiente, implicando na existência de fatores de risco genéticos (El-Sayed Moustafa & Froguel, 2013). Já foi abordado que numerosos genes e variantes genéticas estão envolvidos no desenvolvimento da obesidade e da adiposidade, mas, além disso, a literatura tem mostrado também que dependendo da variação genética que um indivíduo apresenta, é possível que ele não aproveite os micronutrientes ingeridos como deveria.

Sabe-se que as ações da vitamina D no organismo são mediadas por um receptor nuclear e que o gene desse receptor regula aproximadamente 3% do genoma humano, incluindo genes cruciais para o metabolismo glicídico e lipídico (Hahn et al, 2006; Pittas et al, 2007). O gene do receptor da vitamina D é altamente polimórfico e suas frequências alélicas são variáveis entre diferentes grupos étnicos e raciais (Ogunkolade et al, 2002), sendo que tem sido encontradas associações significativas entre polimorfismos no gene do receptor da vitamina D e a sensibilidade do indivíduo à insulina (Maestro et al, 2003). Revisão de Davis & Clarke (2013) apontou que micro RNAs regulam a expressão de genes relacionados à aquisição, transporte, estoque, utilização e homeostase do ferro no organismo. Dessa forma, alterações na expressão de micro RNA podem influenciar a maneira pela qual as células respondem a demanda e/ou à disponibilidade do ferro.

O transportador de vitamina C sódio - dependente 2 é responsável pelo transporte da vitamina C a várias células e o seu mal funcionamento leva à reduzida concentração dessa vitamina nos tecidos (Savini et al, 2008; Wilson, 2005). Polimorfismos (SNPs) nos genes desse transportador já foram associados à várias doenças (Dalgård et al, 2013; Wright et al, 2009; Zanon-Moreno et al, 2011; Erichsen et al, 2008) e Cahill e colaboradores encontraram dois SNPs (rs6139591 e rs2681116) que alteraram a correlação entre a ingestão de vitamina C e a concentração de ácido ascórbico circulante (Cahill & El-Sohemy, 2009). Os níveis de α -tocoferol (vitamina E) também são afetados por variações genéticas (Cook-Mills, Abdala-Valencia & Hartert, 2013). Mutações na proteína transportadora de α -tocoferol no fígado resultam em deficiência desse micronutriente (Cavalier et al, 1998), além disso, polimorfismo no gene da apolipoproteína A51131T>C leva ao aumento da concentração de α -tocoferol em adultos e crianças (Sundl et al, 2007; Guardiola et al, 2010).

O polimorfismo (genótipo TT) no gene que codifica a enzima metilenotetraidrofolato redutase (envolvida no metabolismo da homocisteína) foi associado a menor densidade

mineral óssea quando a ingestão de vitaminas do complexo B pertencia ao menor quartil de consumo (Abrahamsen et al, 2005). Outra demonstração da influência da variação genética no aproveitamento dos micronutrientes é o fato de que a suplementação regular de vitamina K antagoniza, em graus variados, a atividade farmacológica de anticoagulantes em diferentes pacientes, sendo que essa heterogeneidade de resposta é explicada pela influência de um polimorfismo na atividade complexo epóxido redutase da vitamina K (Sconce et al, 2008; Zuchinali et al, 2013). Todas estas evidências apontam para a necessidade de um futuro estudo de genotipagem e de análise de micronutrientes no soro dos participantes dos dois clusters metabólicos.

Variações genéticas podem determinar não somente a forma com que um indivíduo assimila os nutrientes que ingere (conforme colocado nos parágrafos anteriores), como também o comportamento de seus parâmetros glicídicos e lipídicos. De acordo com revisão de Watkins & Farrall (2006), fatores genéticos influenciam o perfil lipídico e existem pesquisas que identificaram mutações que podem levar à doença arterial coronariana por afetarem os níveis de LDL e de HDL (Watkins & Farrall, 2006).

Há vários estudos que respaldam as diferentes respostas apresentadas pelos indivíduos com base na relação entre gene – nutriente – perfil bioquímico. Um exemplo é o polimorfismo “epsilon” na apolipoproteína E (APOE), apontado em diversas meta-análises como um fator de risco genético para as doenças cardiovasculares (Song, Stampfer & Liu, 2004; Bennet et al, 2007; Teslovich et al, 2010). A APOE tem papel importante no metabolismo lipídico, e as isoformas geradas a partir do polimorfismo (APOE2, APOE3 e APOE4) interagem de maneira diferente com o receptor das lipoproteínas e assim influenciam a concentração plasmática de colesterol (Anoop et al, 2010; Siest et al, 1995). Outros dois polimorfismos da APOE se associam a características metabólicas: o SNP rs439401 tem relação com maior concentração de TG e menores níveis de HDL (Aulchenko et al, 2009), e o SNP rs4420638 tem associação com menor concentração de HDL, maiores níveis de colesterol total e LDL, bem como maior relação CT/HDL e LDL/HDL (Teslovich et al, 2010, Kathiresan et al, 2008; Willer et al, 2009; Liu et al, 2011).

A resposta glicêmica também está associada à genética na literatura. Foi encontrada associação entre a expressão de selenoproteína P, primeira proteína a se ligar ao selênio vindo da dieta, com a resistência insulínica e com a obesidade, uma vez que o selênio mimetiza a ação da insulina e tem propriedades anti-diabéticas (Hellwege et al, 2013; Stapleton, 2000; Zeng et al, 2012; Choi et al, 2013). O polimorfismo rs2119882 no gene MTNR1A e o polimorfismo rs10830963 no gene MTNR1B foram relacionados a aumento do risco para resistência à insulina em mulheres chinesas e esses polimorfismos foram associados a aumento da glicemia de jejum no diabetes gestacional (Li et al, 2013).

Inúmeros trabalhos têm sido publicados mostrando o efeito de polimorfismos genéticos no risco para o diabetes tipo 2, tais como alterações no gene do PPAR- γ , da enzima conversora do angiotensinogênio, da metilenotetrahidrofolato redutase, da proteína ligadora de ácidos graxos- 2 (FABP2) e no gene associado à obesidade e à massa gorda (FTO) (Abbas et al, 2013; Sanghera et al, 2008; Altshuler et al, 2000; Nikzamir et al, 2008; Barraz, Shojapoor & Najem, 2009; Vimalleswaran, Radha & Mohan, 2006).

Além disso, a regulação de padrões anormais de funcionamento do organismo também pode ocorrer por meio de mecanismos epigenéticos, os quais afetam o perfil de expressão de um gene sem alterar sua sequência de nucleotídeos (Jaenisch & Bird, 2003). Um desses mecanismos é a metilação de DNA em “regiões CpG” (citosinas com guanina como nucleótido próximo), geralmente presentes nas regiões promotoras dos genes (Cordero et al, 2013). E esses mecanismos epigenéticos são modulados por vários fatores, como estado nutricional e ingestão de nutrientes (Lomba et al, 2010; Boqué et al, 2009; Cordero et al, 2013), situação que também poderia estar contribuindo para os diferentes padrões bioquímicos apresentados pelos clusters 1 e 2. Todas estas especulações serão testadas em futuro estudo, como citado anteriormente.

LIMITAÇÕES DO ESTUDO

No presente estudo, foi escolhido como inquérito alimentar o questionário de frequência alimentar (QFA), método indireto de avaliação do consumo de nutrientes, no qual há a possibilidade de erros em relação ao entrevistado e ao entrevistador. Tais erros são inerentes ao instrumento de medida, mas mesmo assim foram tomadas algumas providências na tentativa de minimizá-los. Foram feitas três aplicações do instrumento, o que minimiza a variabilidade intrapessoal (Costa et al, 2006), e durante cada aplicação foi exigida a presença de um adulto ciente das características da alimentação do participante. Foram exibidos um álbum fotográfico com os tamanhos das porções dos alimentos e bebidas questionados e um kit de utensílios domésticos (com diferentes tamanhos de colheres, copos, pratos, etc) para que os participantes visualizassem tamanhos de porções diferentes e relatassem com mais fidedignidade o tamanho das porções que consumiam. Todos os entrevistadores foram intensamente treinados para minimizar erros de coleta de informações.

CONCLUSÕES

Foram encontrados dois grupos metabólicos opostos. Os indivíduos podem responder de forma diferente a uma mesma intervenção e é possível que a suplementação de múltiplos micronutrientes tenha um papel na melhora do perfil glicídico e lipídico de alguns sujeitos. Estudos de genotipagem e proteômica poderão reforçar esta hipótese e ajudar a entender como o sistema biológico de crianças e adolescentes interage para culminar em uma resposta frente a uma intervenção.

REFERÊNCIAS

- Aasheim Et, Hofsø D, Hjelmessaeth J, Birkeland Ki, Bøhmer T: Vitamin status in morbidly obese patients: a cross-sectional study. *Am J Clin Nutr*, 87:362-9, 2008.
- Abbas AM, Sakr HF. Simvastatin and vitamin E effects on cardiac and hepatic oxidative stress in rats fed on high fat diet. *J Physiol Biochem*. Apr 12. 2013.
- Abbas S, Raza ST, Ahmed F, Ahmad A, Rizvi S, Mahdi F. Association of Genetic polymorphism of PPARgamma-2, ACE, MTHFR, FABP-2 and FTO genes in risk prediction of type 2 diabetes mellitus. *J Biomed Sci*. Oct 25;20(1):80, 2013.
- Abrahamsen B, Madsen JS, Tofteng CL, Stilgren L, Bladbjerg EM, Kristensen SR, et al. Are effects of MTHFR (C677T) genotype on BMD confined to women with low folate and riboflavin intake? Analysis of food records from the Danish osteoporosis prevention study. *Bone*; 36(3):577–83, 2005.
- Ainsworth BE, et al. Compendium of physical activities: classification of energy costs of human physical activities. *Med Sci Sports Exerc*; 25 (1):71-80, 1993.
- Alberti KG, Zimmet P, Shaw J: Metabolic syndrome - a new world-wide definition: a consensus statement from the International Diabetes Federation. *Diabet Med*;23:469-480, 2006.
- Albertson AM, Thompson DR, Franko DL, Holschuh NM. Weight indicators and nutrient intake in children and adolescents do not vary by sugar content in ready-to-eat cereal: results from National Health and Nutrition Examination Survey 2001-2006. *Nutr Res*. Mar;31(3):229-36, 2011.
- Alcantara Neto, Osvaldo Dário de et al . Fatores associados à dislipidemia em crianças e adolescentes de escolas públicas de Salvador, Bahia. *Rev. bras. epidemiol.*, São Paulo, v. 15, n. 2, 2012 .
- Alipour A, van Oostrom AJ, Izraeljan A, Verseyden C, Collins JM, Frayn KN, Plokker TW, Elte JW, Castro Cabezas M. Leukocyte activation by triglyceride-rich lipoproteins. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. Apr;28(4):792-7, 2008.
- Alpert MA. Obesity cardiomyopathy: pathophysiology and evolution of the clinical syndrome. *Am J Med Sci*;321:225-36, 2001.
- Altshuler D, Hirschhorn JN, Klannemark M, Lindgren CM, Vohl MC, Nemesh J, Lane CR, Schaffner SF, Bolk S, Brewer C, Tuomi T, Gaudet D, Hudson TJ, Daly M, Groop L, Lander ES: The common PPAR Pro12Ala polymorphism is associated with decreased risk of type 2 diabetes. *Nat Genet*, 26:76–80, 2000.
- Anoop S, Misra A, Meena K, Luthra K: Apolipoprotein E polymorphism in cerebrovascular & coronary heart diseases. *Indian J Med Res*, 132:363–378, 2010.
- Apex Fitness. Bodybugg. Disponível em: http://www.bodybugg.com/science_behind_bodybugg.php. Acesso em: 22 outubro de 2013.
- Armaganijan D, Batlouni M. Níveis Séricos de Ferritina e Outros Indicadores de Ferro Orgânico como Factores ou Marcadores de Risco para Doença Arterial Coronária. *Rev Port Cardiol*;22 (2):185-195, 2003.

Aulchenko YS, Ripatti S, Lindqvist I, Boomsma D, Heid IM, Pramstaller PP, Penninx BW, Janssens AC, Wilson JF, Spector T, et al: Loci influencing lipid levels and coronary heart disease risk in 16 European population cohorts. *Nat Genet*, 41:47–55, 2009.

Barraz JT, Shojapoor M, Najem H: Methylenetetrahydrofolate reductase gene polymorphism in diabetes and obesity. *Mol Biol Rep*, 37:105–109, 2009.

Bailey, Ken. *Typologies and Taxonomies-Numerical Taxonomy and Cluster Analysis*, 1994.

Baker AR, McDonnell DP, Hughes M, Crisp TM, Mangelsdorf DJ, Haussler MR, Pike JW, Shine J, O'Malley BW. Cloning the expression of full length cDNA encoding human vitamin D receptor. *Proc Natl Acad Sci USA* 85:3294–3298, 1988.

Balaban G, Silva GAP. Prevalência de sobrepeso em crianças e adolescentes de uma escola da rede privada de Recife. *J Pediatr*;77:96-100, 2001.

Beauloye V, Zech F, Mong Htt, Clapuyt P, Maes M, Brichard Sm. Determinants of early atherosclerosis in obese children and adolescents. *J Clin Endocrin Metab* 92:3025–3032, 2007.

Bennet AM, Di Angelantonio E, Ye Z, Wensley F, Dahlin A, Ahlbom A, Keavney B, Collins R, Wiman B, de Faire U, et al: Association of apolipoprotein E genotypes with lipid levels and coronary risk. *JAMA*, 298:1300–1311, 2007.

Biscegli Ts, Correa Cec, Romera J, Hernandez Jlj. Avaliação do estado nutricional e prevalência da carência de ferro em crianças frequentadoras de uma creche. *Rev Paul Pediatr*, 24(4):323-329, 2006.

Boden, G.; Jadali, F.; White, J.; Liang, Y.; Mozzoli, M.; Chen, X.; Coleman, E.; Smith, C. Effects of fat on insulin-stimulated carbohydrate metabolism in normal men. *J. Clin. Invest*, 88, 960–966, 1991.

Bonnefont-Rousselot D: The role of antioxidant micronutrients in the prevention of diabetic complications. *Treat Endocrinol*, 3:41-52, 2004.

Boqué N, Campión J, Paternain L, García-Díaz DF, Galarraga M, Portillo MP, Milagro FI, Ortiz de Solórzano C, Martínez JA. Influence of dietary macronutrient composition on adiposity and cellularity of different fat depots in Wistar rats. *J Physiol Biochem. Dec*;65(4):387-95, 2009.

Bouchard C, Shepard R, Stephens T. Physical activity, fitness and health: consensus statement. Champaign, Illinois: Human Kinetics. 1993.

Bowry VW, Ingold KU, Stocker R: Vitamin E in human low-density lipoprotein. When and how this antioxidant becomes a pro-oxidant. *Biochem J*, 288, 341–344, 1992.

Brusco, M. J. Clustering binary data in the presence of masking variables. *Psychological Methods*, 9, 510–523, 2004.

Brusco, M. J., & Cradit, J. D. A variable-selection heuristic for K-means clustering. *Psychometrika*, 66, 249–270, 2001.

Cahill LE, El-Sohemy A. Vitamin C transporter gene polymorphisms, dietary vitamin C and serum ascorbic acid. *J Nutrigenet Nutrigenomics* 2: 292– 301, 2009.

Camillo, C.C.; Amancio, O.M.; Vitalle, M.S.; Braga, J.A.; Juliano, Y. Anemia and nutritional status of children in day-care centers in Guaxupe. *Rev Assoc Med Bras*, v.54, p.154-159, 2008.

Campana AO, Padovani CR, Iaria CT, Freitas CBD, De Paiva SAR, Hossne WS. *Investigação científica na área médica*. 1st ed. Sao Paulo: Manole; 2001.

Canas Ja, Sweeten S, Balagopal P. Biomarkers for cardiovascular risk in children. *Pediatrics*, v. 28, n. 2, 2013.

Carpenter, K. M., Liu, X., & Hasin, D. S. The type A-type B classification in a community sample of problem drinkers: Structural and predictive validity. *Addictive Behaviors*, 31, 15–30, 2006.

Carvalho DF, Paiva AdA, Melo ASO, Ramos AT, Medeiros JS, Medeiros CCM et al. Perfil lipídico e estado nutricional de adolescentes. *Rev Bras Epidemiol* ; 10: 491-8, 2007.

Cavalier L, Ouahchi K, Kayden HJ, Di Donato S, Reutenauer L, Mandel JL, Koenig M. Ataxia with isolated vitamin E deficiency: heterogeneity of mutations and phenotypic variability in a large number of families. *Am J Hum Genet*; 62:301–310, 1998.

Chen W, Srinivasan SR, Li S, Xu J, Berenson GS. Metabolic syndrome variables at low levels in childhood are beneficially associated with adulthood cardiovascular risk: the Bogalusa Heart Study. *Diabetes Care*;28:126-31, 2005.

Chiolero A, Cachat F, Burnier M, Paccaud F, Bovet P. Prevalence of hypertension in school children based on repeated measurements and association with overweight. *J Hypertens* 25:2209–2217, 2007.

Choi, H.Y., et al. Increased selenoprotein p levels in subjects with visceral obesity and nonalcoholic fatty liver disease. *Diabetes Metab. J.* 37, 63–71, 2013.

Conceição-Machado ME, Silva LR, Santana ML, Pinto EJ, Silva Rde C, Moraes LT, Couto RD, Assis AM. Hypertriglyceridemic waist phenotype: association with metabolic abnormalities in adolescents. *J Pediatr (Rio J)*. Jan-Feb;89(1):56-63, 2013.

Cook-Mills JM, Abdala-Valencia H, Hartert T. Two faces of vitamin E in the lung. *Am J Respir Crit Care Med*. Aug 1;188(3):279-84, 2013.

Copeland KC, Zeitler P, Geffner M, Guandalini C, Higgins J, Hirst K, et al. Characteristics of adolescents and youth with recent-onset type 2 diabetes: The TODAY cohort at baseline. *J Clin Endocrinol Metab*;96:159–67, 2011.

Cordero P, Campion J, Milagro FI, Martinez JA. Transcriptomic and epigenetic changes in early liver steatosis associated to obesity: Effect of dietary methyl donor supplementation. *Mol Genet Metab*. Nov;110(3):388-95, 2013.

Coronelli CLS, Moura EC. Hipercolesterolemia em escolares e seus fatores de risco. *Rev Saúde Pública*; 37: 24-31, 2003.

COSTA, André Gustavo Vasconcelos et al . Questionário de frequência de consumo alimentar e recordatório de 24 horas: aspectos metodológicos para avaliação da ingestão de lipídeos. *Rev. Nutr.*, Campinas , v. 19, n. 5, Oct. 2006 .

Costa R, Fisberg M, Maxta J, Sonderbergh T. UNIFESP, Secretaria Municipal de Santos e Universidade São Marcos (dados em publicação).

Cote AT, Harris KC, Panagiotopoulos C, Sandor GG, Devlin AM, Childhood Obesity and Cardiovascular Dysfunction, Journal of the American College of Cardiology, 2013.

Cunha DF, Cunha SFC, Piloto PE, Santos NP, Barros JW. Estado nutricional e resposta de fase aguda em pacientes com fratura do terço proximal do fêmur. Revista Brasileira de Ortopedia 3:321-324, 1998a.

Cunha DF, Santos VM, Monteiro JP, Carvalho da Cunha SF. Hypophosphatemia in acute-phase response syndrome patients. Preliminary data. Mineral and Electrolyte Metabolism 24:337-340, 1998b.

Czernichow S, Vergnaud Ac, Galan P, Arnaud J, Favier A, Faure H, Huxley R, Hercberg S, Ahluwalia N: Effects of long-term antioxidant supplementation and association of serum antioxidant concentrations with risk of metabolic syndrome in adults. Am J Clin Nutr, 90:329-35, 2009.

Dalgård C, Christiansen L, Vogel U, Dethlefsen C, Tjønneland A, Overvad K. Variation in the sodium-dependent vitamin C transporter 2 gene is associated with risk of acute coronary syndrome among women. PLoS One. Aug 21;8(8):e70421, 2013.

Danford LC, Schoeller DA, Kushner RF. Comparison of two bioelectrical impedance analysis models for total body water measurement in children. Ann Hum Biol. Nov-Dec;19(6):603-7, 1992.

Danesh J, Whincup P, Walker M, Lennon L, Thomson A, Appleby P, Gallimore JR, Pepys MB. Low grade inflammation and coronary heart disease: prospective study and updated meta-analyses. BMJ; 321: 199–204, 2000.

Davis M, Clarke S. Influence of microRNA on the maintenance of human iron metabolism. Nutrients. Jul 10;5(7):2611-28, 2013.

Day FR, Loos RJF: Developments in obesity genetics in the era of genome-wide association studies. J Nutrigenet Nutrigenomics; 4: 222–238, 2011.

de Craen, S., Commandeur, J. J. F., Frank, L. E., & Heiser, W. J. Effects of group size and lack of sphericity on the recovery of clusters in K-means cluster analysis. Multivariate Behavioral Research, 41, 127–145, 2006.

de Gómez Dumm NT, Giammona AM, Touceda LA. Variations in the lipid profile of patients with chronic renal failure treated with pyridoxine. Lipids Health Dis. Sep 18;2:7, 2003.

Devaraj S, Leonard S, Traber Mg, Jialal I. Gamma-tocopherol supplementation alone and in combination with alpha-tocopherol alters biomarkers of oxidative stress and inflammation in subjects with metabolic syndrome. Free Radic Biol Med, 44:1203-8, 2008.

Devaraj S, Li D, Jialal I: The effects of alpha-tocopherol supplementation on monocyte function. Decreased lipid oxidation, interleukin 1 beta secretion, and monocyte adhesion to endothelium. J Clin Invest, 98, 756–763, 1996.

Diaz MN, Frei B, Vita JA, Keaney JF Jr. Antioxidants and atherosclerotic heart disease. N Engl J Med.;337:408–416, 1997.

Diretrizes da Sociedade Brasileira de Diabetes 2009 / Sociedade brasileira de diabetes . – [3. ed.]. – Itapevi, SP: A. Araújo Silva Farmacêutica, 2009.

Dreon DM, Fernstrom HA, Williams PT, Krauss RM. A very low-fat diet is not associated with improved lipoprotein profiles in men with a predominance of large, low-density lipoproteins. *Am J Clin Nutr.* Mar;69(3):411-8, 1999.

Ebbert JO, Jensen MD. Fat depots, free fatty acids, and dyslipidemia. *Nutrients.* Feb 7;5(2):498-508, 2013.

El-Sayed Moustafa JS, Froguel P. From obesity genetics to the future of personalized obesity therapy. *Nat Rev Endocrinol.* Jul;9(7):402-13, 2013.

Erichsen HC, Peters U, Eck P, Welch R, Schoen RE et al. Genetic variation in sodium-dependent vitamin C transporters SLC23A1 and SLC23A2 and risk of advanced colorectal adenoma. *Nutr Cancer* 60: 652–659, 2008.

Estivill-Castro, Vladimir. "Why so many clustering algorithms — A Position Paper". *ACM SIGKDD Explorations Newsletter* 4 (1): 65–75, 2002.

Faruqi, R, de la Motte C, DiCorleto PE: Alpha-tocopherol inhibits agonist-induced monocytic cell adhesion to cultured human endothelial cells. *J Clin Invest*, 94, 592–600, 1994.

FERNANDES, Rômulo Araújo et al . Proposta de pontos de corte para indicação da obesidade abdominal entre adolescentes. *Arq. Bras. Cardiol.*, São Paulo, v. 93, n. 6, Dec. 2009.

Fernandez-Real J, Ricart-Engel W, Arroyo E, Rafael B, Casamitjana- Abella R, Cabrero D et al. Serum ferritin as a component of the insulin resistance syndrome. *Diabetes Care* 21, 62–68, 1998.

Ferreira, M.G., Valente, J., Gonçalves-Silva, R.M.V. & Sichieri, R. Acurácia da circunferência da cintura e da relação cintura/quadril como preditores de dislipidemias em estudo transversal de doadores de sangue de Cuiabá, Mato Grosso, Brasil. *Cadernos de Saúde Pública*, 22(2), 307-314, 2006.

Firek-Pedras M, Małeck-Tendera E, Klimek K, Zachurzok-Buczyńska A. [Influence of fat tissue distribution on metabolic complications in children and adolescents with simple obesity]. *Endokrynol Diabetol Chor Przemiany Materii Wieku Rozw*;12(1):19-24, 2006.

Ford ES. The metabolic syndrome and C-reactive protein, fibrinogen, and leukocyte count: findings from the Third National Health and Nutrition Examination Survey. *Atherosclerosis* 168, 351–358, 2003.

Foss YJ: Vitamin D deficiency is the cause of common obesity. *Med Hypotheses*, 72:314-21, 2009.

Franca Ed, Alves JGB. Dislipidemia entre crianças e adolescentes de Pernambuco. *Arq Bras Cardiol*; 87: 722-7, 2006.

Freedman, D.S., Serdula, M.K., Srinivasan, S.R. & Berenson, G.S. Relation of circumferences and skinfold thicknesses to lipid and insulin concentrations in children and adolescents: the Bogalusa Heart Study. *American Journal of Clinical Nutrition*, 69, 308- 317, 1999.

Frohlich M, Imhof A, Berg G, Hutchinson WL, Pepys MB, Boeing H et al. Association between C-reactive protein and features of the metabolic syndrome: a population-based study. *Diabetes Care* 23, 1835–1839, 2000a.

Frohlich M, Imhof A, Berg G, Hutchinson WL, Pepys MB, Boeing H et al. Association between C-reactive protein and features of the metabolic syndrome: a population based study. *Diabetes Care* 23, 1835–1839, 2000b.

Fuenmayor G, Redondo AC, Shiraishi KS, Souza R, Elias PF, Jatene IB. Prevalence of dyslipidemia in children with congenital heart disease. *Arq Brás Cardiol. Sep*;101(3):273-276, 2013.

Fumagalli F, Monteiro JP, Sartorelli DS, Vieira MNM, Bianchi MLP. Validation of a food frequency questionnaire for assessing dietary nutrients in Brazilian children 5 to 10 years of age. *Nutrition*; 24:427-432, 2008.

Furukawa S, Fujita T, Shimabukuro M, Iwaki M, Yamada Y, Nakajima Y, et al. Increased oxidative stress in obesity and its impact on metabolic syndrome. *J Clin Invest*; 114(12): 1752-61, 2004.

Galata, Z.; Moschonis, G.; Makridakis, M.; Dimitraki, P.; Nicolaides, N.C.; Manios, Y.; Bartzeliotou, A.; Chrousos, G.P.; Charmandari, E. Plasma proteomic analysis in obese and overweight prepubertal children. *Eur J Clin Invest*. 2011.

Gallistl S, Sudi Km, Mangge H, Wolfgang E, Borkenstein M. Insulin is an independent correlate of plasma homocysteine levels in obese children and adolescents. *Diabetes Care* 23:1348–1352, 2000.

Gibson S. Micronutrient intakes, micronutrient status and lipid profiles among young people consuming different amounts of breakfast cereals: further analysis of data from the National Diet and Nutrition Survey of Young People aged 4 to 18 years. *Public Health Nutr.* Dec;6(8):815-20, 2003.

Gidding SS, Palermo RA, Deloach SS, Keith SW, Falkner B. Associations of Cardiac Structure with Obesity, Blood Pressure, Inflammation, and Insulin Resistance in African-American Adolescents. *Pediatr Cardiol.* Oct 6, 2013.

Gong CD, Wu QL, Chen Z, Zhang D, Zhao ZY, Peng YM. Glycolipid metabolic status of overweight/obese adolescents aged 9- to 15-year-old and the BMI-SDS/BMI cut-off value of predicting dyslipidemia in boys, Shanghai, China: a cross-sectional study. *Lipids Health Dis.* Aug 28;12(1):129, 2013.

González AS, Guerrero DB, Soto MB, Díaz SP, Martínez-Olmos M, Vidal O. Metabolic syndrome, insulin resistance and the inflammation markers C-reactive protein and ferritin. *Eur J Clin Nutr.* Jun;60(6):802-9, 2006.

Gregor MF, Hotamisligil GS. Inflammatory mechanisms in obesity. *Annu Rev Immunol* 2011; 29: 415-45, 2006.

Grillo LP, Crispim SP, Siebert AN, Andrade ATW, Rossi A, Campos IC. Perfil lipídico e obesidade em escolares de baixa renda. *Rev Bras Epidemiol* ; 8: 75-81, 2005.

Gröber-Grätz D, Widhalm K, de Zwaan M, Reinehr T, Blüher S, Schwab KO, Wiegand S, Holl RW. Body mass index or waist circumference: which is the better predictor for hypertension and dyslipidemia in overweight/obese children and adolescents? Association of

cardiovascular risk related to body mass index or waist circumference. *Horm Res Paediatr.*;80(3):170-8, 2013.

Guardiola M, Ribalta J, Gomez-Coronado D, Lasuncion MA, de Oya M, Garces C. The apolipoprotein A5 (ApoA5) gene predisposes Caucasian children to elevated triglycerides and vitamin E (four provinces study). *Atherosclerosis*;212:543–547, 2010.

Guenther, PM; Reedy, J; Krebs-Smith, SM; Reeve, BB; Basiotis, PP. Development of the Healthy Eating Index-2005. *Journal of the American Dietetic Association*, Chicago, v. 108, n, 11, p. 1896-1901, 2008.

Hadler, MCCM; Sigulem, DM; Costa Alves, MF; Torres, VM. Treatment and prevention of anemia with ferrous sulfate plus folic acid in children attending daycare centers in Goiânia, Goiás state, Brazil: a randomized controlled trial. *Cad. Saúde Pública*, v.24, Suppl.2, p.5259-5271, 2008.

Han TS, Sattar N, Williams K, Gonzalez-Villalpando C, Lean ME, Haffner SM et al. Prospective study of C-reactive protein in relation to the development of diabetes and metabolic syndrome in the Mexico City Diabetes Study. *Diabetes Care* 25, 2016–2021, 2002.

Harrabi I, Bouaouina M, Maatoug J, Gaha R, Ghannem H: Prevalence of the metabolic syndrome among urban schoolchildren in Sousse, Tunisia. *Int J Cardiol*;135:130-131, 2008.

Haslam Dw, James Wpt. Obesity. *Lancet*, v. 366, p. 1197-1209, 2005.

Havivi E, Bar On H, Reshef A, Stein P, Raz I. Vitamins and trace metals status in non insulin dependent diabetes mellitus. *Int J Vitam Nutr Res*; 61(4):328-33, 1991.

Hellwege JN, Palmer ND, Ziegler JT, Langefeld CD, Lorenzo C, Norris JM, Takamura T, Bowden DW. Genetic variants in Selenoprotein P plasma 1 gene (SEPP1) are associated with fasting insulin and first phase insulin response in Hispanics. *Gene*. Oct 23, 2013.

Hennes, MM, Shrago, E, Kissebah, AH. Receptor and postreceptor effects of free fatty acids (FFA) on hepatocyte insulin dynamics. *Int. J. Obes.*, 14, 831–841, 1990.

Herouvi D, Karanasios E, Karayianni C, Karavanaki K. Cardiovascular disease in childhood: the role of obesity. *Eur J Pediatr* , 172:721–732, 2013.

Heyward VH, Stolarczyk LM. Applied body composition assessment. Champaign, IL: Human Kinetics; 1996.

Hirschler, VMD, Aranda, CMS, Calcagno, MLMS, Maccalin, GMS & Jadzinsky, MMD. Can Waist Circumference Identify Children With the Metabolic Syndrome? *Archives of Pediatrics e Adolescent Medicine*,159, 740-744, 2005.

Hochman, Bernardo et al. Desenhos de pesquisa. *Acta Cir. Bras.*, São Paulo, v. 20, supl. 2, 2005 .

Honorato, AS, Bando, A, Uchimura, TT, Junior, MM. Perfis antropométrico, lipídico e glicêmico em adolescentes de uma instituição filantrópica no noroeste do Paraná. *J Bras Patol Med Lab*. v. 46, n. 1, p. 7-15, 2010.

Houtkooper LB, Going SB, Lohman TG, Roche AF, Van Loan M. Bioelectrical impedance estimation of fat-free body mass in children and youth: a cross-validation study. *J Appl Physiol*. Jan;72(1):366-73, 1992.

Huang ZS, Chien KL, Yang CY, Tsai KS, Wang CH. Peripheral differential leukocyte counts in humans vary with hyperlipidemia, smoking, and body mass index. *Lipids*.;36:237–245, 2001.

Hwang, H., Dillon, W. R., & Takane, Y. An extension of multiple correspondence analysis for identifying heterogeneous subgroups of respondents. *Psychometrika*, 71, 161–171, 2006.

Iannotti RJ, Wang J. Trends in physical activity, sedentary behavior, diet, and BMI among US adolescents, 2001-2009. *Pediatrics*. Oct;132(4):606-14, 2013.

IBGE. Pesquisa de Orçamentos Familiares 2008-2009: Antropometria e estado nutricional de crianças, adolescentes e adultos no Brasil. Rio de Janeiro: IBGE, 2010a.

Isomaa B, Almgren P, Tuomi T, Forsen B, Lahti K, Nissen M et al. Cardiovascular morbidity and mortality associated with the metabolic syndrome. *Diabetes Care* 24, 683–689, 2001.

Jaenisch R, Bird A. Epigenetic regulation of gene expression: how the genome integrates intrinsic and environmental signals. *Nat Genet*. Mar; 33 Suppl:245-54, 2003.

JANSSEN, I., Katzmarzyk, P.T. & Ross, R. Body mass index, waist circumference, and health risk. Evidence in support of current National Institutes of Health Guidelines. *Archives of Internal Medicine*, 162, 2074-2079, 2002.

Jehn M, Clark JM, Guallar E. Serum ferritin and risk of the metabolic syndrome in U.S. adults. *Diabetes Care* 27, 2422–2428, 2004.

Jelliffe, D.B. Evaluacion del estado de nutricion de la comunidad: serie de monografias. Geneva: World Health Organization. p. 191, 1968.

Jeyakumar, S.M.; Kumar, P.V.; Giridharan, N.V.; Vajreswari, A. Vitamin A improves insulin sensitivity by increasing insulin receptor phosphorylation through protein tyrosine phosphatase 1B regulation at early age in obese rats of Wn/OB strain. *Diabetes Obes Metab*, 2011.

Jha P, Flather M, Lonn E, et al. The antioxidant vitamins and cardiovascular disease. A critical review of epidemiologic and clinical trial data. *Ann Intern Med*; 123:860, 1995.

Jiang R, Manson JE, Meigs JB, Ma J, Rifai N, Hu FB. Body iron stores in relation to risk of Type 2 diabetes in apparently healthy women. *JAMA* 11, 711–717, 2004.

Juonala M, Magnussen CG, Berenson GS, Venn A, Burns TL, Sabin MA, et al. Childhood adiposity, adult adiposity, and cardiovascular risk factors. *N Engl J Med*; 365:1876–85, 2011.

Kashyap SR, Diab DL, Baker AR, Yerian L, Bajaj H, Gray-McGuire C, Schauer PR, Gupta M, Feldstein AE, Hazen SL, Stein CM. Triglyceride levels and not adipokine concentrations are closely related to severity of nonalcoholic fatty liver disease in an obesity surgery cohort. *Obesity (Silver Spring)*. Sep;17(9):1696-701, 2009.

Kassi E, Pervanidou P, Kaltsas G, Chrousos G. Metabolic syndrome: definitions and controversies. *BMC Med*; 9:48, 2011.

Kathiresan S, Melander O, Guiducci C, Surti A, Burt NP, Rieder MJ, Cooper GM, Roos C, Voight BF, Havulinna AS, et al: Six new loci associated with blood low-density lipoprotein

cholesterol, high-density lipoprotein cholesterol or triglycerides in humans. *Nat Genet*, 40:189–197, 2008.

Khor, G. L.; Chee, W. S. S.; Shariff, Z. M.; Poh, B. K.; Arumugam, M.; Rahman, J. A.; Theobald, H. E. High prevalence of vitamin D insufficiency and its association with BMI-for-age among primary school children in Kuala Lumpur, Malaysia. *Public Health*. v. 11, p. 11-95, 2011.

Kissebah, A.H.; Alfarsi, S.; Adams, P.W.; Wynn, V. Role of insulin resistance in adipose tissue and liver in the pathogenesis of endogenous hypertriglyceridaemia in man. *Diabetologia*, 12, 563–571, 1976.

Kostoglou-Athanassiou I, Athanassiou P, Gkountouvas A, Kaldrymides P. Vitamin D and glycemic control in diabetes mellitus type 2. *Ther Adv Endocrinol Metab*. Aug;4(4):122-8, 2013.

Kuller LH, Tracy RP, Shaten J, Meilahn EM. Relation of C-reactive protein and coronary heart disease in the MRFIT nested case-control study: Multiple Risk Factor Intervention Trial. *Am J Epidemiol* 144, 537–547, 1996.

Kushi LH, Folsom AR, Prineas RJ, Mink PJ, Wu Y, Bostick RM: Dietary antioxidant vitamins and death from coronary heart disease in postmenopausal women. *N Engl J Med*, 334, 1156–1162, 1996.

Laguna M, Ruiz JR, Gallardo C, García-Pastor T, Lara MT, Aznar S. Obesity and physical activity patterns in children and adolescents. *J Paediatr Child Health*. Nov;49(11):942-9, 2013.

Lakka, T.A.; Lakka, H.M.; Salonen, R.; Kaplan, G.A.; Salonen, J.T. Abdominal obesity is associated with accelerated progression of carotid atherosclerosis in men. *Atherosclerosis*., v. 154, p.497-504, 2001.

Lakshmi AV. Riboflavin metabolism--relevance to human nutrition. *Indian J Med Res*. Nov;108:182-90, 1998.

Lavine, JE et al. Effect of vitamin E or metformin for treatment of nonalcoholic fatty liver disease in children and adolescents: the TONIC randomized controlled trial. *JAMA*., v. 305 (16), p. 1659-1668, 2011.

Lawlor DA, Benfield L, Logue J, Tilling K, Howe LD, Fraser A, et al. Association between general and central adiposity in childhood, and change in these, with cardiovascular risk factors in adolescence: prospective cohort study. *BMJ*; 341:c6224, 2010.

Li C, Qiao B, Zhan Y, Peng W, Chen ZJ, Sun L, Zhang J, Zhao L, Gao Q. Association between Genetic Variations in MTNR1A and MTNR1B Genes and Gestational Diabetes Mellitus in Han Chinese Women. *Gynecol Obstet Invest*. Oct 18, 2013.

Li Y, Guo H, Wu M, Liu M. Serum and dietary antioxidant status is associated with lower prevalence of the metabolic syndrome in a study in Shanghai, China. *Asia Pac J Clin Nutr*; 22(1):60-8, 2013.

Lin Y, Berg AH, Iyengar P, Lam TK, Giacca A, Combs TP, et al. The hyperglycemia-induced inflammatory response in adipocytes: the role of reactive oxygen species. *J Biol Chem*; 280(6): 4617-26, 2005.

Lira FS, Rosa JC, Cunha CA, Ribeiro EB, Nascimento CO, Oyama LM, Mota JF. Supplementing alpha-tocopherol (vitamin E) and vitamin D3 in high fat diet decrease IL-6 production in murine epididymal adipose tissue and 3T3-L1 adipocytes following LPS stimulation. *Lipids Health Dis.*, v.10, p.37, 2011.

Liu L, Sun C, Wang C, Li Y. [Determination of serum vitamin B1 and B2 with HPLC]. *Wei Sheng Yan Jiu.* Nov;40(6):756-8, 2011.

Livingstone MB, Robson PJ: Measurement of dietary intake in children. *Proc Nutr Soc*, 59:279–293, 2000.

Liu Y, Zhou D, Zhang Z, Song Y, Zhang D, Zhao T, Chen Z, Sun Y, Zhang D, Yang Y, et al: Effects of genetic variants on lipid parameters and dyslipidemia in a Chinese population. *J Lipid Res*, 52:354–360, 2011.

Lobstein T, Baur L, Uauy R. Obesity in children and young people: a crisis in public health. *Obes Rev* 1:4–85, 2004.

Lomba A, Martínez JA, García-Díaz DF, Paternain L, Martí A, Campión J, Milagro FI. Weight gain induced by an isocaloric pair-fed high fat diet: a nutrigenetic study on FASN and NDUF6 gene promoters. *Mol Genet Metab.* Oct-Nov;101(2-3):273-8, 2010.

Maestro B, Da Silva N, Carranza MC & Calle C. Identification of a Vitamin D response element in the human insulin receptor gene promoter. *J Steroid Biochem Mol Biol* 84: 223–230, 2003.

Magalhães, VC, Azevedo G, Mendonça S. Prevalência e fatores associados a sobrepeso e obesidade em adolescentes de 15 a 19 anos das regiões Nordeste e Sudeste do Brasil, 1996 a 1997. *Cad Saúde Pública*, v. 19, supl. 1, p. 5129-39, 2003.

Magnussen CG, Koskinen J, Chen W, Thomson R, Schmidt MD, Srinivasan SR, et al. Pediatric metabolic syndrome predicts adulthood metabolic syndrome, subclinical atherosclerosis, and type 2 diabetes mellitus but is no better than body mass index alone: the Bogalusa Heart Study and the Cardiovascular Risk in Young Finns Study. *Circulation*;122:1604-11, 2010.

Marins, V. M. et al. Overweight and risk of overweight in school children in the city of Rio de Janeiro, Brazil: prevalence and characteristics. *Ann Trop Pediatrics*, v. 22, n. 2, p. 137-44, 2002.

Martini LA, Catania AS, Ferreira SR. Role of vitamins and minerals in prevention and management of type 2 diabetes mellitus. *Nutr Rev.* Jun;68(6):341-54, 2010.

Matijasevich A, Victora CG, Golding J, Barros FC, Menezes AM, Araujo CL, Smith GD. Socioeconomic position and overweight among adolescents: data from birth cohort studies in Brazil and the UK. *BMC Public Health.* Apr 15;9:105, 2009.

McLaren D, Frigg M. Manual de ver y vivir sobre los trastornos por deficiencia de vitamina A (VADD). Washington: OPAS/OMS; 1999.

McLean E, Cogswell M, Egli I, Wojdyla D, Benoist B. Worldwide prevalence of anemia in preschool aged children, pregnant women and non-pregnant women of reproductive age. In: Kraemer K, Zimmermann MB. *Nutritional Anemia*. Switzerland: Sight and Life Press, p. 1-12, 2007.

Meng Q, Mäkinen VP, Luk H, Yang X. Systems Biology Approaches and Applications in Obesity, Diabetes, and Cardiovascular Diseases. *Curr Cardiovasc Risk Rep.* 2013 Feb;7(1):73-83, 2012.

Meucci M, Cook C, Curry CD, Guidetti L, Baldari C, Collier SR. Effects of supervised exercise program on metabolic function in overweight adolescents. *World J Pediatr.* Nov;9(4):307-11, 2013.

Ministério Da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Coordenação-Geral da Política de Alimentação e Nutrição. Guia Alimentar para a População Brasileira: promovendo a alimentação saudável, 2006.

Moldawer LL, Copeland EM. Proinflammatory cytokines, nutritional support, and the cachexia syndrome: interactions and therapeutic options. *Cancer* 79:1828- 1839, 1997.

Monteiro JP: Consumo Alimentar – Visualizando porções. 1st edition. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 80p, 2007.

MONTEIRO, Jacqueline Pontes et al . Iron status, malnutrition and acute phase response in HIV-positive patients. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.*, Uberaba , v. 33, n. 2, 2000.

Morrison JA, Friedman LA, Wang P, Glueck CJ. Metabolic syndrome in childhood predicts adult metabolic syndrome and type 2 diabetes mellitus 25 to 30 years later. *J Pediatr*; 152:201-6, 2008.

Mostafaie, N. et al. Circulating retinol-binding protein 4 and metabolic syndrome in the elderly. *Wien Med Wochenschr*, 2011.

Moura EC, Castro CM, Mellin AS, Figueiredo DB. Perfil lipídico em escolares de Campinas, SP, Brasil. *Rev Saúde Pública*; 34: 499-505, 2000.

Nikzamir A, Nakhjavani M, Golmohammadi T, Dibai L, Saffary R: Polymorphism in the angiotensin converting enzyme (ACE) gene and ACE activity in type 2 diabetic patients. *Acta Med Iran*, 46(4):277–282, 2008.

Ogunkolade BW, Boucher BJ, Prah J, Bustin SA, Burrin JM, Noonan K et al. Vitamin D receptor (VDR) mRNA and VDR protein levels in relation to vitamin D status, insulin secretory capacity, and VDR genotype in Bangladeshi Asians. *Diabetes* 51:2294–2300, 2002.

Okada Y, Kubo M, Ohmiya H, et al: Common variants at CDKAL1 and KLF9 are associated with body mass index in east Asian populations. *Nat Genet*; 44: 302–306, 2012.

Oliveira, Karoline Faria de; CUNHA, Daniel Ferreira da; WEFORT, Virginia Resende Silva. Análise da vitamina C sérica e ingerida e estresse oxidativo em crianças e adolescentes infectados pelo vírus da imunodeficiência humana. *J. Pediatr. (Rio J.)*, Porto Alegre, v. 87, n. 6, Dec. 2011 .

Olszewski AJ, Szostak WB, Bialkowska M, Rudnicki S, McCully KS. Reduction of plasma lipid and homocysteine levels by pyridoxine, folate, cobalamin, choline, riboflavin, and trolox in atherosclerosis. *Atherosclerosis*. Jan;75(1):1-6, 1989. Erratum in: *Atherosclerosis*, 88(1):978, 1991.

Organização Mundial De Saúde (OMS). Grow reference 5-19 years. Body mass index for age (5-19 years) percentiles girls and boys, 2007.

Ortega RM, Requejo AM, Redondo R, López-Sobaler AM, Andrés P, Ortega A, Gaspar MJ, Quintas E, Navia B. Influence of the intake of fortified breakfast cereals on dietary habits and nutritional status of Spanish schoolchildren. *Ann Nutr Metab*; 40(3):146-56, 1996.

Ozkanlar S, Akcay F. Antioxidant vitamins in atherosclerosis—animal experiments and clinical studies. *Adv Clin Exp Med*. Jan- Feb;21(1):115-23, 2012.

Panagiotou G, Nielsen J. Nutritional systems biology: definitions and approaches. *Annu Rev Nutr*; 29:329-39, 2009.

Pate RR, et al. Physical Activity Among Children Attending Preschools. *Pediatrics*, v. 114, n. 5, november, 2004.

Pate RR, O'Neill JR, Liese AD, Janz KF, Granberg EM, Colabianchi N, Harsha DW, Condrasky MM, O'Neil PM, Lau EY, Taverno Ross SE. Factors associated with development of excessive fatness in children and adolescents: a review of prospective studies. *Obes Rev*. Aug;14(8):645-58, 2013.

Paternoster L, Evans DM, Nohr EA, et al: Genome wide population based association study of extremely overweight young adults – the GOYA study. *PLoS One*; 6: e24303, 2012.

Pedrozo WR, Bonneau G, Castillo Rascón MS, Juárez M, Cardozo J. Reference values and prevalence of lipidic profile alterations in adolescents]. *Arch Argent Pediatr*. Apr;108(2):107-15, 2010.

Pereira A, Guedes AD, Verreschi ITN, Santos RD, Martinez TLR. A obesidade e sua associação com os demais fatores de risco cardiovascular em escolares de Itapetininga, Brasil. *Arq Bras Cardiol*; 93: 253-60, 2009.

Pesquisa Nacional por Amostra de Domicílios 2008. Brasil. Rio de Janeiro: IBGE, v. 29, 2009.

Peters BS, Santos LC, Fisberg M, Wood RJ, Martini LA. Prevalence of vitamin D insufficiency in Brazilian adolescents. *Ann Nutr Metab*. v.54, p.15-21, 2009.

Pittas AG, Lau J, Hu FB, Dawson-Hughes B. The role of vitamin D and calcium in type 2 diabetes. A systematic review and meta-analysis. *J Clin Endocrinol Metab* 92:2017–2029, 2007.

Pradhan AD, Manson JE, Rifai N, Buring JE, Ridker PM. C-reactive protein, interleukin 6, and risk of developing type 2 diabetes mellitus. *JAMA* 286, 327–334, 2001.

Pulgarón ER. Childhood Obesity: A Review of Increased Risk for Physical and Psychological Comorbidities. *Clinical Therapeutics*, v. 35, n. 1, 2013.

Ramalho RA, Flores H, Saunders C. Hipovitaminose A no Brasil: um problema de saúde pública *Rev Panam Salud Publica/Pan Am J Public Health* 12(2), 117, 2002.

Reilly JJ, Kelly J. Long-term impact of overweight and obesity in childhood and adolescence on morbidity and premature mortality in adulthood: systematic review. *Int J Obes (Lond)*, 35:891–898, 2011.

Ribas SA, Silva LCS. Dislipidemia em escolares na rede privada de Belém. *Arq Bras Cardiol*; 92: 446-51, 2009.

Ridker PM, Cushman M, Stampfer MJ, Tracy RP, Hennekens CH. Inflammation, aspirin, and the risk of cardiovascular disease in apparently healthy men. *N Engl J Med* 336, 973–979, 1997.

Ryan R, Martin A, Brooks-Gunn, J. Is one good parent enough? Patterns of mother and father parenting and child cognitive outcomes at 24 and 36 months. *Parenting: Science and Practice*, 6, 211–228, 2006.

Romaldini CC, Issler H, Cardoso AL, Diament J, Forti N. Fatores de risco para aterosclerose em crianças e adolescentes com história familiar de doença arterial coronariana prematura. *J Pediatría*; 80: 135-40, 2004.

Romanowska A, Lebensztejn DM, Skiba E, Tarasów E, Kaczmarek M. Retinol binding protein-4 as a serum biomarker of intrahepatic lipid content in obese children – preliminary report. *ACTA Biochimica Polonica.*, v. 58 (1), 2011.

Rosen ED, MacDougald OA. Adipocyte differentiation from the inside out. *Nat Rev Mol Cell Biol*; 7(12): 885-96, 2006.

Rosini N, Machado MJ, Webster IZ, Moura SA, Cavalcante LD, da Silva EL. Simultaneous prediction of hyperglycemia and dyslipidemia in school children in Santa Catarina State, Brazil based on waist circumference measurement. *Clin Biochem. Sep 4.* pii: S0009-9120(13)00394-9, 2013.

Ross R. Atherosclerosis—an inflammatory disease. *N Engl J Med*; 340:115–126, 1999.

Salo A, Logomarsino JV. Relationship of vitamin D status and cardiometabolic risk factors in children and adolescents. *Pediatr Endocrinol Rev*; 9:456---62, 2011.

Santos MG, Pegoraro M, Sandrini F, Macuco EC. Fatores de risco no desenvolvimento da aterosclerose na infância e adolescência. *Arq Bras Cardiol*; 90: 301-8, 2008.

Savini I, Rossi A, Pierro C, Avigliano L, Catani MV. SVCT1 and SVCT2: key proteins for vitamin C uptake. *Amino Acids* 34: 347–355, 2008.

Sattar N, Gaw A, Scherbakova O, Ford I, O'Reilly DS, Haffner SM et al. Metabolic syndrome with and without C-reactive protein as a predictor of coronary heart disease and diabetes in the West of Scotland Coronary Prevention Study. *Circulation* 108, 414–419, 2003.

Schenk S, Saberi M, Olefsky JM. Insulin sensitivity: modulation by nutrients and inflammation. *J Clin Invest*; 118(9): 2992-3002, 2008.

Schmidt MI, Duncan BB, Sharrett AR, Lindberg G, Savage PJ, Offenbacher S, Azambuja MI, Tracy RP, Heiss G. Markers of inflammation and prediction of diabetes mellitus in adults (Atherosclerosis Risk in Communities study): a cohort study. *Lancet*; 353:1649–1652, 1999.

Schubert CM, Sun SS, Burns TL, Morrison JA, Huang TT. Predictive ability of childhood metabolic components for adult metabolic syndrome and type 2 diabetes. *J Pediatr*; 155:S6.e1-e7, 2009.

Sconce EA, Avery PJ, Wynne HA, Kamali F. Vitamin K epoxide reductase complex subunit 1 (VKORC1) polymorphism influences the anticoagulation response subsequent to vitamin K intake: a pilot study. *Thromb Haemost* 6:1226–1228, 2008.

Scott JM, McDougale L, Schwirian K, Taylor CA. Differences in the dietary intake habits by diabetes status for African American adults. *Ethn Dis.*, v.20(2), p.99-10, 2010.

Seki MO, Matsuo T, Seki M. Colesterol não-HDL em escolares de 7 a 17 anos de idade em um município brasileiro. *Rev Panam Salud Pública*; 21: 307-12, 2007.

Sanghera DK, Ortega L, Han S, Singh J, Ralhan SK, Wander GS, Mehra NK, Mulvihill JJ, Ferrell RE, Nath SK, Kamboh MI: Impact of nine common type 2 diabetes risk polymorphisms in Asian Indian Sikhs: PPARG2 (Pro12Ala), IGF2BP2, TCF7L2 and FTO variants confer a significant risk. *BMC Med Genet*, 9:59–67, 2008.

Sheu WHH, Chen YT, Lee WJ, Wang CW, Lin LY. A relationship between serum ferritin and insulin resistance syndrome is present in non-diabetic women but non-diabetic men. *Clin Endocrinol* 58, 380–385, 2003.

Siest G, Pillot T, Regis-Bailly A, Leininger-Muller B, Steinmetz J, Galteau MM, Visvikis S: Apolipoprotein E: an important gene and protein to follow in laboratory medicine. *Clin Chem*, 41:1068–1086, 1995.

Silva LSV, Veiga GV, Ramalho RA. Association of serum concentrations of retinol and carotenoids with overweight in children and adolescents. *Nutrition*, v. 23, p.392-397, 2007.

Srinivasan SR, Bao W, Wattigney WA, Berenson GS. Adolescent overweight is associated with adult overweight and related multiple cardiovascular risk factors: the Bogalusa heart study. *Metabolism*; 45:235–40, 1996.

Skilton MR, Celermajer DS. Endothelial dysfunction and arterial abnormalities in childhood obesity. *Int J Obes* 30:1041–1049, 2006.

Smith BW, Adams LA. Nonalcoholic fatty liver disease and diabetes mellitus: pathogenesis and treatment. *Nat Rev Endocrinol*, 2011.

Sociedade Brasileira de Pediatria. Avaliação nutricional da criança e do adolescente: manual de orientação. São Paulo: Sociedade Brasileira de Pediatria; 2009.

Sohn C, Kim J, Bae W. The framingham risk score, diet, and inflammatory markers in Korean men with metabolic syndrome. *Nutr Res Pract*. Jun; 6(3):246-53, 2012.

Song Y, Stampfer MJ, Liu S: Meta-analysis: apolipoprotein E genotypes and risk for coronary heart disease. *Ann Intern Med*, 141:137–147, 2004.

Souza Leão SC, Araújo LMB, Moraes LTLP, Assis AM. Prevalência de obesidade em escolares de Salvador, Bahia. *Arq Bras Endocrinol Metab*; 47/2:151-7, 2003.

Speakman JR. Functional analysis of seven genes linked to body mass index and adiposity by genome-wide association studies: a review. *Hum Hered*; 75(2-4):57-79, 2013.

Speliotes EK, Willer CJ, Berndt SI, Monda KL, Thorleifsson G, et al: Association analyses of 249,796 individuals reveal 18 new loci associated with body mass index. *Nat Genet*; 42: 937–948, 2010.

Sposito AC, Caramelli B, Fonseca FA, et al. Sociedade Brasileira de Cardiologia. [IV Brazilian Guideline for Dyslipidemia and Atherosclerosis prevention: Department of Atherosclerosis of Brazilian Society of Cardiology]. *Arq Bras Cardiol*. Apr;88 Suppl 1:2-19, 2007.

Stapleton SR. Selenium: an insulin-mimetic. *Cell Mol. Life Sci.* 57, 1874–1879, 2000.

Steinberger J, Daniels SR, Eckel RH, Hayman L, Lustig RH, McCrindle B, et al. Progress and challenges in metabolic syndrome in children and adolescents: a scientific statement from the American Heart Association Atherosclerosis, Hypertension, and Obesity in the Young Committee of the Council on Cardiovascular Disease in the Young; Council on Cardiovascular Nursing; and Council on Nutrition, Physical Activity, and Metabolism. *Circulation*; 119:628-47, 2009.

Steinley, D. Local optima in K-means clustering: What you don't know may hurt you. *Psychological Methods*, 8, 294–304, 2003.

Steinley, D. Standardizing variables in K-means clustering. In D. Banks, L. House, F. R. McMorris, P. Arabie, & W. Gaul (Eds.), *Classification, clustering, and data mining applications* (pp. 53–60). New York, NY: Springer, 2004.

Steinley D. K-means clustering: A half-century synthesis. *British Journal of Mathematical and Statistical Psychology*, 59, 1–34, 2006a.

Steinley, D. Profiling local optima in K-means clustering: Developing a diagnostic technique. *Psychological Methods*, 11, 178–192, 2006b.

Steinley D, Brusco MJ. Evaluating mixture modeling for clustering: recommendations and cautions. *Psychol Methods*. Mar;16(1):63-79, 2011.

Yamauchi Yamauchi Sundl I, Guardiola M, Khoschsorur G, Sola R, Vallve JC, Godas G, Masana L, Maritschnegg M, Meinitzer A, Cardinault N, et al. Increased concentrations of circulating vitamin E in carriers of the apolipoprotein A5 gene - 1131T.C variant and associations with plasma lipids and lipid peroxidation. *J Lipid Res*; 48:2506–2513, 2007.

Tahergorabi Z, Khazaei M. The relationship between inflammatory markers, angiogenesis, and obesity. *ARYA Atheroscler*. Jun;9(4):247-53, 2013.

Tailor AM, Peeters PH, Norat T, Vineis P, Romaguera D: An update on the prevalence of the metabolic syndrome in children and adolescents. *Int J Pediatr Obes*; 5:202-213, 2010.

Takitani K, Miyazaki H, Fukunishi S, Takaya R, Yoden A, Higuchi K, Tamai H. Altered expression of both B-carotene 15, 15' Monooxygenase and lecithin: Retinol Acyltransferase in Obese Zucker Rats. *J. Nutr Sci Viataminol.*, v.57, p. 108-113, 2011

Tanner J: Growth at adolescence: with a general condition of the effects of hereditary and environmental factors upon growth and maturation from birth to maturity. 2nd edition. Oxford: Blackwell Scientific; 1962.

Teslovich TM, Musunuru K, Smith AV, Edmondson AC, Stylianou IM, Koseki M, Pirruccello JP, Ripatti S, Chasman DI, Willer CJ, et al: Biological, clinical and population relevance of 95 loci for blood lipids. *Nature*, 466:707–713, 2010.

Thorand B, Lowel H, Schneider A, Kolb H, Meisinger C, Frohlich M et al. C-reactive protein as a predictor for incident diabetes mellitus among middle-aged men: results from the MONICA Augsburg Cohort Study, 1984–1998. *Arch Intern Med* 163, 93–99, 2003.

Tieh P, Dreimane D. Type 2 Diabetes Mellitus in Children and Adolescents. *Indian J Pediatr*, 2013.

Torquato MTGC, Montenegro JRRN, Viana LAL, Souza RAHG, Ianna CMM, Lucas JCB et al. Prevalence of diabetes mellitus and impaired glucose tolerance in the urban population aged 30-69 years in Ribeirão Preto (São Paulo), Brazil. *São Paulo Med J*; 121 (6): 224-30, 2003.

Trevisan M, Liu J, Bahsas FB, Menotti A. Syndrome X and mortality: a population based study. *Am J Epidemiol* 148, 958–966, 1998.

Trey JE, Kushner I. The acute phase response and the hematopoietic system: the role of cytokines. *Crit Rev Oncol Hematol*. Nov;21(1-3):1-18, 1995.

Tutel'ian VA, Pogozheva AV, Rumiantseva OI, Akol'zina SE, Lysikova SL, Kodentsova VM, Mal'tsev Glu. [Effects of biologically active supplements on the antioxidant and vitamin status of patients with hypertension and ischemic heart disease]. *Vopr Pitan*; 70(1):12-4, 2001.

Van Ommen B, Bouwman J, Dragsted LO, Drevon CA, Elliott R, De Groot P, Kaput J, Mathers JC, Müller M, Pepping F, Saito J, Scalbert A, Radonjic M, Rocca-Serra P, Travis A, Wopereis S, Evelo CT. Challenges of molecular nutrition research 6: the nutritional phenotype database to store, share and evaluate nutritional systems biology studies. *Genes Nutr*. Sep;5(3):189-203, 2010.

Vieira AC et al. Nutritional assessment of iron status and anemia in children under 5 years old at public daycare centers. *J Pediatr*, v. 83, p. 370-376, 2007.

Villaça CG, Gonçalves SG, Cardoso MA, Abrantes PW, Pereira SE, Saboya CJ, D'Almeida CA, Ramalho A. Serum retinol and β -carotene levels and risk factors for cardiovascular disease in morbid obesity. *Int J Vitam Nutr Res*. Jun;80(3):159-67, 2010.

Vimalaswaran KS, Radha V, Mohan V: Thr54 allele carriers of The Ala54Thr variant of FABP2 gene have associations with metabolic syndrome and hypertriglyceridemia in urban South Indians. *Metabolis*, 55:1222–1226, 2006.

Vitolo MR, Bortolini GA. Iron bioavailability as a protective factor against anemia among children aged 12 to 16 months. *J Pediatr*. v.83 (1), p. 33-38, 2007.

Von Haehling S, Doehner W, Anker SD. Obesity and the heart a weighty issue. *J Am Coll Cardiol*; 47:2274-6, 2006.

Wannamethee SG, Lowe GD, Rumley A, Bruckdorfer KR, Whincup PH: Associations of vitamin C status, fruit and vegetable intakes, and markers of inflammation and hemostasis. *Am J Clin Nutr*, 83, 567–574, 2006.

Wang Y, Lobstein T. Worldwide trends in childhood overweight and obesity. *Int J Pediatr Obes* 1:11–25, 2006.

Wang Y, Monteiro CA, Popkin BM. Trends of obesity and underweight in older children and adolescents in the United States, Brazil, China and Russia. *Am J Clin Nutr*, v. 75, n. 6, p. 971-7, 2002.

Wanten G, Emst-De Vries S, Naber T, Willems P. Nutritional lipid emulsions modulate cellular signaling and activation of human neutrophils. *J Lipid Res*; 42:428–436, 2001.

Wanten GJ, Geijtenbeek TB, Raymakers RA, van Kooyk Y, Roos D, Jansen JB, Naber AH. Medium-chain, triglyceride-containing lipid emulsions increase human neutrophil beta2

integrin expression, adhesion, and degranulation. *J Parenter Enteral Nutr*; 24:228–233, 2000.

Watkins H, Farrall M: Genetic susceptibility to coronary artery disease: from promise to progress. *Nat Rev Genet*, 7:163–173, 2006.

Weise CM, Hohenadel MG, Krakoff J, Votruba SB. Body composition and energy expenditure predict ad-libitum food and macronutrient intake in humans. *Int J Obes (Lond)*, 2013.

Weiss R. Childhood metabolic syndrome: must we define it to deal with it? *Diabetes Care*; 34(Suppl 2):S171-6, 2011.

Weiss R, Kaufman FR. Metabolic complications of childhood obesity: identifying and mitigating the risk. *Diabetes Care*. Feb;31 Suppl 2:S310-6, 2008.

Wen WQ, Cho YS, Zheng W, et al: Metaanalysis identifies common variants associated with body mass index in east Asians. *Nat Genet*; 44: 307–311, 2012.

Willer CJ, Speliotes EK, Loos RJ, Li S, Lindgren CM, et al: Six new loci associated with body mass index highlight a neuronal influence on body weight regulation. *Nat Genet*; 41: 25–34, 2009.

Wilson JX. Regulation of vitamin C transport. *Annu Rev Nutr* 25: 105– 125, 2005.

World Health Organization (WHO). Department of Health & Human Services – USA. Center for Disease Control and Prevention (CDC). Worldwide prevalence of anaemia 1993-2005. WHO Global Database on Anaemia. Geneva; 2008.

World Health Organization (WHO). Global prevalence of vitamin A deficiency — micronutrient deficiencies information system. Working paper no 2. Geneva: WHO; (Document WHO/NUT/95.3), 1995.

Wright ME, Andreotti G, Lissowska J, Yeager M, Zatonski W et al. Genetic variation in sodium-dependent ascorbic acid transporters and risk of gastric cancer in Poland. *European Journal of Cancer* 45: 1824–1830, 2009.

Zanon-Moreno V, Ciancotti-Olivares L, Asencio J, Sanz P, Ortega-Azorin C et al. Association between a SLC23A2 gene variation, plasma vitamin C levels, and risk of glaucoma in a Mediterranean population. *Mol Vis* 17: 2997– 3004, 2011.

Zeng MS et al. A high-selenium diet induces insulin resistance in gestating rats and their offspring. *Free Radic. Biol. Med.* 52, 1335–1342, 2012.

Zhou SS, Li D, Zhou YM, Sun WP, Liu QG. B-Vitamin consumption and the prevalence of diabetes and obesity among the US adults: population based ecological study. *BMC Public Health.*, v. 10, p.746, 2010.

Zuchinali P, Souza GC, Aliti G, Botton MR, Goldraich L, Santos KG, Hutz MH, Bandinelli E, Rohde LE. Influence of VKORC1 gene polymorphisms on the effect of oral vitamin K supplementation in over-anticoagulated patients. *J Thromb Thrombolysis*, 2013.

ANEXOS

1. Termo de Assentimento para Crianças e Adolescentes

	UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO DEPARTAMENTO DE PUERICULTURA E PEDIATRIA Av. Bandeirantes, 3900. Cep 14049-900 – Ribeirão Preto – SP Telefone: (16) 3602-2573 - FAX: (16) 3602-2700

TERMO DE ASSENTIMENTO PARA CRIANÇAS E ADOLESCENTES

Eu, PROFESSORA DOUTORA JACQUELINE PONTES MONTEIRO e a Nutricionista ROBERTA GARCIA SALOMÃO, pesquisadoras do Departamento de Puericultura e Pediatria da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (USP-SP), estamos desenvolvendo a pesquisa intitulada **“Nova estratégia para analisar interações gene-nutriente em crianças e adolescentes”** e estamos convidando você a participar deste trabalho.

A obesidade, em crianças e adolescentes, é uma doença causada pelo excesso da ingestão de calorias. Baixa ingestão de vitaminas e minerais (substâncias vitais para o nosso organismo) pode determinar o aparecimento de doenças associadas à obesidade. Nós achamos que a suplementação de vitaminas e alguns minerais irá melhorar a condição nutricional de crianças e adolescentes por aumentar substâncias no sangue chamadas S-adenosilmetionina (SAM) e S-adenosilhomocisteína (SAH). Os níveis dessas substâncias no seu sangue podem estar associados à condição de saúde ou doença, inclusive a obesidade. Também achamos que os diferentes níveis dessas substâncias (SAM e SAH) estão associados às diferentes variações genéticas (diferenças nos seus genes). O que são genes? São pequenas estruturas no nosso corpo que definem nossa aparência e nossa condição de saúde e de doença. Ou seja, somos o que somos por causa da interação entre estas estruturas internas com o meio em que vivemos.

Este estudo tem como objetivo a melhor compreensão de como a suplementação de vitaminas e minerais pode afetar os níveis no sangue de substâncias específicas e como estes níveis estão associados às mudanças nos genes. A importância destes achados está no fato de que indivíduos com diferentes genes irão necessitar de diferentes orientações sobre alimentação para obterem melhores condições de saúde, ou seja, você receberá uma orientação sobre a alimentação mais adequada para você.

Se você concordar em participar neste estudo, terá que ingerir barrinhas de leite da Nestlé ricas em vitaminas e minerais (2 barrinhas para crianças entre 9 e 11 anos e 3 barrinhas para aqueles com idade maior ou igual a 12 anos), durante seis semanas porém apenas durante os dias escolares. Essas barrinhas de leite deverão ser entregues a você no seu colégio, antes do início das aulas e deverão ser comidas imediatamente após a entrega das mesmas, condição **IMPORTANTE** para a participação neste estudo. Você não receberá as barrinhas aos sábados, domingos e feriados. Você receberá as barrinhas de leite por pesquisadores estrategicamente posicionados em frente à sua escola e em um carro de apoio à pesquisa, a fim de não constranger ou expor você no ambiente escolar.

Você deve encontrar os pesquisadores durante 3 momentos diferentes para coleta de dados importantes para essa pesquisa. Essa coleta de dados durará entre 2 a 3 horas em cada momento. Em cada um destes momentos, você receberá ajuda de custo para pagar transporte (ida e volta) até o local da coleta e pagar almoço para você e para seu responsável legal.

- Momento 1: antes de receber as barrinhas de leite

- Momento 2: após 6 semanas do recebimento das barrinhas de leite
- Momento 3: após mais 6 semanas SEM receber as barrinhas de leite

Em cada momento, as seguintes atividades serão desenvolvidas:

1. Coleta de sangue: 12 ml no momento 1 (4 colheres de sopa cheias) e 9 ml nos momentos 2 e 3 (aproximadamente 3 colheres de sopa cheias).
2. Medidas de peso, estatura e circunferência da cintura.
3. Simples avaliação da quantidade da gordura do seu corpo através de um aparelho chamado impedância bioelétrica, sem qualquer risco, desconforto ou dor.
4. Responder a questionários sobre a alimentação usual, sobre a atividade física e sobre a condição econômica com a ajuda de seus pais ou responsáveis legais.

Na semana que antecede cada coleta de sangue vocês serão procurados pelos pesquisadores para responderem a 3 recordatórios de 24 horas (o que você comeu ou bebeu no dia anterior).

A coleta de sangue será feita por pessoal capacitado para essa função e o risco é mínimo (**Riscos: A coleta de sangue tem risco mínimo**). Em alguns casos verifica-se pequena luxação no local. Estas amostras serão coletadas após um jejum de pelo menos 6 horas. Será fornecido café de manhã imediatamente após a coleta de sangue. Nenhum outro procedimento do trabalho confere qualquer outro risco a você.

Seu sangue será usado para análise de genes e de outras substâncias no sangue. Para essas análises, seu sangue será enviado para o laboratório de pesquisa do Instituto de Pesquisa em Saúde da Nestlé (NIHS) na cidade de *Lausanne*, na Suíça e, se necessário, para outros laboratórios externos ligados ao NIHS. No primeiro dia da pesquisa você receberá um número e todos os pesquisadores envolvidos com as dosagens de sangue (NACIONAIS E ESTRANGEIROS) passarão a reconhecer você apenas por esse número e não pelo nome.

Você deverá usar um bracelete que mede o número de passos, a atividade física e o gasto energético da pessoa. Veja a ilustração abaixo. Esse bracelete chama-se “BodyBug” e não confere desconforto ou qualquer risco a você. Esse bracelete será fornecido pelos pesquisadores e deverá ser usado durante três dias determinados pelo pesquisador. Além disso, o número exato de passos que você dará no dia será medido, durante 8 horas diárias por 7 dias, através de um aparelhinho que pode ser colocado no seu bolso chamado “pedômetro”. Os pesquisadores lhe fornecerão esse aparelhinho também.

Figura: BodyBug para avaliação da atividade física

Você terá toda a garantia de esclarecimento a respeito da pesquisa, a qualquer momento que precisar. Para isso, você, bem como seus responsáveis, poderão entrar em contato direto com as pesquisadoras JACQUELINE PONTES MONTEIRO (FONE: 16 9154 88 93) e ROBERTA GARCIA SALOMÃO (FONE: 16 9128 0494), além de poder contatar o comitê de ética em pesquisa do Hospital das Clínicas de Ribeirão Preto, de 8:30hs até 17:00hs, de segunda-feira a sexta-feira, caso julgar necessário (FONE: 16 3602-2228; ENDEREÇO: Av. Bandeirantes sem número. Hospital das Clínicas, andar térreo. Campus USP).

Você também terá a liberdade para se recusar a participar da pesquisa ou retirar seu consentimento, em qualquer fase da pesquisa, sem penalização alguma.

O benefício desta pesquisa está no fato de que você receberá uma orientação sobre a sua dieta (4 cardápios semanais com substitutos de alimentos), mais adequada à sua realidade. Estes cardápios personalizados só poderão ser entregues após o término de todos os exames de sangue e de todas as análises destes resultados. Além disso, você e seus familiares receberão orientação nutricional geral (BOAS PRÁTICAS DE ALIMENTAÇÃO). Esta última, poderá ser entregue para você e para toda a família, já à partir do final da coleta dos dados.

Não está previsto qualquer dano ou complicação a você decorrentes da pesquisa.

Assinale abaixo caso você concorde em ser contatado mais tarde para participar de outras pesquisas.

- Concordo em ser contatado mais tarde para participar em outras pesquisas ( ).
- Não concordo em ser contatado mais tarde para participar em outras pesquisas ( ).

PARA VOCÊ ENTENDER MELHOR O QUE ESTAMOS PROPONDO VAMOS CONTAR COMO SERÁ SUA PARTICIPAÇÃO NO PROJETO
VEJA

AS FIGURAS ABAIXO:

Coleta de sangue

Avaliação do Pediatra

Café da manhã

Pesar e medir

Circunferência da cintura

Responder questionários

Impedância

Comer a barrinha de leite por 6 semanas

Usar BodyBugg por 3 dias e pedômetro por 7 dias

EU _____

- abaixo

assinado,

_____, confirmo ter recebido todas as informações sobre a pesquisa a ser desenvolvida e estou ciente de como vou participar. Estou de acordo em participar. Eu tive tempo suficiente para tomar minha decisão. Eu fui informado, pelo pesquisador abaixo, verbalmente ou por escrito sobre os objetivos do estudo bem como sobre os benefícios e desvantagens. Eu estou participando desta pesquisa por livre e

espontânea vontade. Eu posso voltar atrás na minha decisão em consentir a minha participação nesta pesquisa a qualquer momento, sem ter que dar uma explicação e sem ser submetido a qualquer consequência desagradável.

Participante da Pesquisa (criança ou adolescente)

Ribeirão Preto, _____ (data)

Declaração do Investigador: Eu, abaixo assinado, certifico que expliquei à criança ou adolescente, voluntário da pesquisa, a natureza, a significância e os objetivos deste estudo. Eu declaro que tenho cumprido com todas as obrigações relacionadas a este ensaio clínico.

Roberta Garcia Salomão

Ribeirão Preto, _____ (data)

Jacqueline Pontes Monteiro

Ribeirão Preto, _____ (data)

2. Termo de Consentimento Livre e Esclarecido para os Pais

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO
DEPARTAMENTO DE PUERICULTURA E PEDIATRIA

Av. Bandeirantes, 3900. Cep 14049-900 – Ribeirão Preto – SP
Telefone: (16) 3602-2573 - FAX: (16) 3602-2700

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO PARA OS PAIS

Eu, PROFESSORA DOUTORA JACQUELINE PONTES MONTEIRO e a Nutricionista ROBERTA GARCIA SALOMÃO, pesquisadoras do Departamento de Puericultura e Pediatria da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (USP-SP), estamos desenvolvendo a pesquisa intitulada **“Nova estratégia para analisar interações gene-nutriente em crianças e adolescentes”** e estamos convidando seu filho (a) a participar deste trabalho.

A obesidade e suas complicações são causadas pelo excesso da ingestão de calorias, mas também a baixa ingestão de vitaminas e minerais pode determinar o aparecimento de doenças associadas à obesidade. Nós achamos que a suplementação de vitaminas e alguns minerais (substâncias vitais para o nosso organismo) irá melhorar a condição nutricional de crianças e adolescentes por aumentar substâncias chamadas S-adenosilmetionina (SAM) e S-adenosilhomocisteína (SAH) no sangue. Os níveis dessas substâncias no sangue de seu (sua) filho (a) podem estar associados à condição de saúde ou doença, inclusive a obesidade. Também achamos que os diferentes níveis dessas substâncias (SAM e SAH) estão associados às diferentes variações genéticas (diferenças nos genes de cada indivíduo). O que são genes? São pequenas estruturas no nosso corpo que definem nossa aparência e nossa condição de saúde e de doença. Ou seja, somos o que somos por causa da interação entre estas estruturas internas com o meio em que vivemos. A importância destes achados está no fato de que indivíduos com diferentes genes irão necessitar de diferentes orientações sobre alimentação para obterem melhores condições de saúde, ou seja, seu (sua) filho (a) receberá uma orientação sobre a alimentação mais adequada para ele (a). Essa pesquisa se justifica por que cada indivíduo responde diferentemente a um tratamento nutricional, conforme as interações entre gene e o meio ambiente em que vive. Exemplo: pessoas obesas respondem diferentemente a uma intervenção nutricional; umas emagrecem muito facilmente, enquanto outras têm uma enorme dificuldade para emagrecer. Dessa forma, com os resultados dessa pesquisa pretendemos descobrir em que grupo de resposta (valores de SAM e SAH) seu (sua) filho (a) se encontra, para melhor orientarmos sua alimentação.

Diante disso, essa pesquisa tem como objetivos:

(1) analisar a resposta da razão SAM/SAH à suplementação de um conjunto de vitaminas e minerais (barrinha de leite da Nestlé - 5 gramas - suplementada com vitaminas e minerais) em indivíduos. Essa barrinha de leite (2 barrinhas para crianças entre 9 e 11 anos e 3 barrinhas para aqueles com idade igual ou superior a 12 anos) deverão ser entregues nos colégios dos participantes, antes do início das aulas e deverão ser comidas imediatamente após a entrega das mesmas, condição **IMPORTANTE** para a participação neste estudo. Cada participante receberá as barrinhas de leite por pesquisadores estrategicamente posicionados em frente às escolas e em um carro de apoio à pesquisa, a fim de não constranger ou expor seu (sua) filho (a) no ambiente escolar. Cada participante deverá ingerir as barrinhas durante 6 semanas, apenas durante os 5 dias letivos. Aos sábados, domingos e feriados, os participantes não receberão as barrinhas.

(2) analisar variações genéticas no DNA e associar à resposta determinada pela razão SAM/SAH. Para isso, não procuraremos especificamente um gene, mas qualquer diferença genética que tenha relação com a resposta acima.

(3) Avaliar a ingestão de energia e nutrientes através da aplicação de recordatórios de 24 horas (perguntaremos a seu (sua) filho (a) o que comeu e bebeu no dia anterior) e questionários de frequência alimentar para crianças e adolescentes. Estes resultados serão utilizados para avaliação da ingestão habitual de energia, proteínas, gorduras, açúcares, vitaminas e minerais para que possamos achar possíveis alterações na dieta habitual que possam interferir nos resultados.

(4) verificar como as proteínas e outras substâncias, tais como vitaminas e lipídios, no sangue de seu (sua) filho (a) respondem à suplementação de vitaminas e minerais. O que são proteínas? Conjunto de pequenas estruturas corporais que são responsáveis pela estrutura, defesa e transporte no seu corpo. O que são lipídios? São as gorduras no sangue.

(5) separar os participantes do estudo em diferentes grupos, conforme os níveis de SAM e SAH e associar esses grupos com os resultados genéticos e de metabólitos no sangue. Dessa forma poderemos orientar quais são os alimentos que devem ser mais ingeridos e quais são aqueles que devem ser menos ingeridos, para ter melhor saúde.

A coleta de dados acontecerá em 3 momentos diferentes na unidade da Casa 5 do Curso de Nutrição e Metabolismo, na rua das Paineiras no Campus da USP em Ribeirão Preto:

- Momento 1: antes da suplementação
- Momento 2: após 6 semanas de suplementação
- Momento 3: após mais 6 semanas SEM a suplementação

Em cada um destes momentos o participante receberá ajuda de custo para pagar transporte (ida e volta) até o local da coleta e almoço do participante e de seu representante legal. Em cada um dos momentos os participantes terão seu sangue colhido: 12 ml no momento 1 (4 colheres de sopa cheias) e 9 ml nos momentos 2 e 3 (aproximadamente 3 colheres de sopa cheias); terão o peso, a altura e a circunferência da cintura medidos, assim como avaliação simples da quantidade das gordura do corpo através de um aparelho chamado impedância bioelétrica, sem qualquer risco, desconforto ou dor; e responderão a questionários sobre a alimentação usual, sobre a atividade física e sobre a condição econômica. O seu (sua) filho (a) poderá ser auxiliado por você, no preenchimento dos questionários. **O tempo previsto para toda a coleta de dados em cada momento é de 2 a 3 horas no total.**

Crianças e adolescentes, além da ajuda dos pais ou responsáveis responderão as perguntas sobre hábitos alimentares com a ajuda de um álbum fotográfico com o tamanho das porções de cada alimento. Dessa forma, será possível indicar a foto que mais se parece com a quantidade ingerida pelo participante. Na semana que antecede cada coleta de sangue os participantes serão procurados pelos pesquisadores para responderem a 3 recordatórios de 24 horas (o que você comeu ou bebeu no dia anterior).

A coleta de sangue será feita por pessoal capacitado para essa função e o risco é mínimo (**Riscos: A coleta de sangue tem risco mínimo**). Em alguns casos verifica-se pequena luxação no local da coleta de sangue. Estas amostras serão coletadas após um jejum de pelo menos 6 horas. Será fornecido café de manhã imediatamente após a coleta de sangue. Nenhum outro procedimento do trabalho confere qualquer outro risco a seu (sua) filho (a).

Com o objetivo de medir o número de passos, a atividade física e o gasto energético de seu filho (a), cada participante deverá usar um bracelete durante três dias. Veja a ilustração abaixo. Esse bracelete é chamado BodyBugg", será fornecido pelos pesquisadores e não confere desconforto ou qualquer risco ao indivíduo.

Figura: BodyBugg para avaliação da atividade física

Sua criança terá toda a garantia de esclarecimento a respeito da pesquisa, a qualquer momento que precisar. Para isso, sua criança, bem como os responsáveis legais, poderão entrar em contato direto com as pesquisadoras JACQUELINE PONTES MONTEIRO (FONE: 16 9154 88 93) e ROBERTA GARCIA SALOMÃO (FONE: 16 9128 0494), além de poder contatar o comitê de ética em pesquisa do Hospital das Clínicas de Ribeirão Preto, de 8:30hs até 17:00hs, de segunda-feira a sexta-feira, caso julgar necessário (FONE: 16 3602-2228; ENDEREÇO: Av. Bandeirantes sem número. Hospital das Clínicas, andar térreo. Campus USP).

As amostras de sangue serão enviadas para análise da genotipagem (pesquisa de variações genéticas) e dos metabólitos (vitaminas, proteínas, gorduras) para o laboratório de pesquisa do Instituto de Pesquisa em Saúde da Nestlé (NIHS) na cidade de *Lausanne*, na Suíça. Caso seja necessário, para análises específicas, tais como análises de proteínas e lipídios, as amostras também poderão ser encaminhadas para outros laboratórios externos ligados ao NIHS. Isso se deve ao fato de que estes laboratórios estão altamente capacitados para analisar todas as amostras e estão, em conjunto com a Professora Dra. Jacqueline Pontes Monteiro, coordenando essa pesquisa. Após o término de todas as análises para o presente projeto, todas as amostras de seu (sua) filho (a) serão descartadas, respeitando-se as normas vigentes de órgãos técnicos competentes, a confidencialidade e a autonomia dos participantes. Os dados genéticos de seu (sua) filho (a) não serão divulgados e nem ficarão acessíveis a terceiros. A duração desta pesquisa, desde a coleta dos dados até as análises dos resultados pode durar até 3 anos.

IMPORTANTE: Seu (sua) filho (a) tem garantia de sigilo, que assegure a sua privacidade, e os resultados serão publicados, sem que em nenhum momento seja divulgada a identidade de seu (sua) filho (a). Cada participante receberá um número, no primeiro dia de pesquisa, e todos os pesquisadores envolvidos com as dosagens de sangue (NACIONAIS E ESTRANGEIROS) passarão a reconhecer seu (sua) filho (a) apenas por esse número e não pelo nome. Cada participante terá a opção de escolher entre ser informado ou não sobre resultados de seus exames bem como pode ter acesso a seus dados genéticos, assim como tem o direito de retirá-los de bancos onde se encontrem armazenados a qualquer momento. Todos os resultados serão digitados em um banco de dados e a identidade de seu (sua) filho (a) será substituída por um número. Apenas a coordenadora local (Profa. Dra. Jacqueline Pontes Monteiro), terá acesso ao número que está associado ao nome, para que ela possa descobrir em que grupo de resposta seu (sua) filho (a) se encontra, para fornecer a orientação nutricional individualizada.

Seu (sua) filho (a) também terá a liberdade para se recusar a participar da pesquisa ou retirar seu consentimento, em qualquer fase da pesquisa, sem penalização alguma.

O benefício desta pesquisa está no fato de que indivíduos com diferentes padrões de variação genética irão necessitar de diferentes orientações sobre alimentação para obterem melhores condições de saúde, ou seja, sua criança receberá uma orientação sobre a sua dieta (4 cardápios semanais com substitutos de alimentos), mais adequada à sua realidade. Estes cardápios personalizados só poderão ser entregues após o término de todos os exames de sangue e de todas as análises destes resultados. Além disso, você e sua criança receberão orientação nutricional geral (BOAS PRÁTICAS DE ALIMENTAÇÃO). Esta última, poderá ser entregue para toda a família, já à partir do final da coleta dos dados. A fim de acompanharmos melhor o estilo de vida e possíveis alterações que possam interferir nos resultados, visitas domiciliares deverão ocorrer (4 visitas no total, entre 17 e

18hs e visitas adicionais em caso de seu filho (a) faltar na escola e de termos que entregar a barrinha de leite na sua residência).

Não está previsto qualquer dano ou complicação a seu (sua) filho (a) decorrentes da pesquisa. Um pediatra estará no local da pesquisa durante toda a coleta de dados, caso seja necessário. Entretanto, se a sua criança sentir que sofreu qualquer dano a si mesmo por ter participado da pesquisa, o pesquisador principal, a Instituição e o patrocinador assumem a responsabilidade de dar assistência integral e prover indenização determinada por direito, caso assim seja judicialmente estabelecido.

Assinale abaixo caso você concorde em ser contatado mais tarde para permitir a participação de seu (sua) filho (a) em outras pesquisas.

Concordo em ser contatado mais tarde para permitir a participação de meu (minha) filho (a) em outras pesquisas ( ).

Não concordo em ser contatado mais tarde para permitir a participação de meu (minha) filho (a) em outras pesquisas ( ).

EU _____

RG: _____, **abaixo assinado,** **responsável** **por** _____, **confirmo que:**

- **Li e entendi todas as informações contidas neste TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO PARA OS PAIS a mim fornecido e que estou consciente dos meus direitos.**
- **Eu recebi, de forma satisfatória, todas as respostas às minhas perguntas no que diz respeito à participação de meu (minha) filho (a) nesta pesquisa.**
- **Eu tive tempo suficiente para tomar a minha decisão.**
- **Eu fui informado de que indenização será dada, em caso de dano ao meu filho (a) considerado relacionado a este estudo.**
- **Eu estou consciente de que os dados pessoais de meu (minha) filho (a) serão enviados e processados, na condição de anonimato, para Instituição Internacional a fim de alcançar os objetivos da pesquisa. Eu concordo que os pesquisadores do estudo, bem como autoridades e membros do comitê de ética vejam todos os dados de nosso (a) filho (a) para exame e verificação desde que os dados de meu (minha) filho (a) permaneçam em confidencialidade.**
- **Eu concordo que meu filho (a) forneça amostras biológicas necessárias para este estudo. Eu confirmo que tenho sido informado (a) de que os dados derivados deste estudo e as amostras biológicas coletadas serão usadas para pesquisa científica que pode resultar, quando aplicável, em publicações e desenvolvimento de produtos. Quando os resultados do estudo forem publicados, os dados serão divulgados com estrita confidencialidade e a identidade de meu (minha) filho (a) nunca será revelada.**
- **Nós tomamos a decisão em permitir a participação de nosso (a) filho (a) neste estudo por livre e espontânea vontade.**
- **Eu autorizo a participação de meu (minha) filho (a).**
- **Eu posso voltar atrás na minha decisão em consentir a participação do meu (minha) filho (a) nesta pesquisa a qualquer momento, sem ter que dar uma explicação e sem ser submetido a qualquer consequência desagradável.**

Responsável legal

Ribeirão Preto, _____ (data).

Declaração do Investigador: Eu, abaixo assinado, certifico que expliquei aos pais, ou responsáveis legais do voluntário da pesquisa, a natureza, a significância e os objetivos deste estudo. Eu declaro que tenho cumprido com todas as obrigações relacionadas a este ensaio clínico. Se eu me tornar conhecedor, em qualquer momento durante este estudo, de informação que possa afetar o consentimento dos pais ou responsáveis legais do voluntário da pesquisa no que diz respeito à sua participação, eu concordo em informá-los imediatamente.

Roberta Garcia Salomão

Ribeirão Preto, _____ (data)

Jacqueline Pontes Monteiro

Ribeirão Preto, _____ (data)

3. Composição do Suplemento Nutricional (“Barra de Leite”)

Micronutrientes	2 Barras de Leite (10g)	3 Barras de Leite (15g)	DRIS		UL	
			9 – 13 anos		9 – 13 anos	
			Meninos	Meninas	Meninos	Meninas
Vitamina A	534 µg	801 µg	600 µg	600 µg	1700µg	1700 µg
Vitamina E	6,6 mg	9,9 mg	11 mg	11 mg	600 mg	600 mg
Folato	133,3 µg	200 µg	300 µg	300 µg	600 µg	600 µg
Vitamina B1	0,93 mg	1,4 mg	0.9 mg	0.9 mg	-	-
Vitamina B2	1,17 mg	1,76 mg	0.9 mg	0.9 mg	-	-
Niacina	12 mg	18 mg	12 mg	12 mg	20 mg	20 mg
Vitamina B6	1,33 mg	2 mg	1.0 mg	1.0 mg	60 mg	60 mg
Vitamina B12	0,73 µg	1,1 µg	1.8 µg	1.8 µg	-	-
Vitamina D3	3,4 µg	5,1 µg	5.0 µg	5.0 µg	50 µg	50 µg
Vitamina C	40 mg	60 mg	45 mg	45 mg	1200 mg	1200 mg
Biotina	13,3 µg	150 µg	20 µg	20 µg	-	-
Pantotenato	4 mg	6 mg	4 mg	4 mg	-	-
Cálcio	191,3mg	287 mg	1300 mg	1300 mg	2500 mg	2500 mg
Fósforo	144,6mg	217 mg	1250 mg	1250 mg	4000 mg	4000 mg
Ferro	4,3 mg	6,5 mg	8 mg	8 mg	40 mg	40 mg
Magnésio	83,3 mg	125 mg	240 mg	240 mg	350 mg	350 mg
Zinco	5,3 mg	6 mg	8 mg	8 mg	23 mg	23 mg

Nome comercial da barra de leite: “Nestrovit”, marca: “Nestlé”.

2 Barras de Leite contém: 51,3kcal, 4,4g de carboidratos, 0,5g de proteínas e 3,4g de lipídeos.

3 Barras de Leite contém: 77kcal, 6,7g de carboidratos, 0,8g de proteínas e 5,2g de lipídeos.

DRIS: Dietary Reference Intakes (Ingestão Dietética Recomendada);

UL: Upper Intake Levels (Nível Máximo de Ingestão Recomendada).

4. Questionário de Frequência de Consumo Alimentar

Nome / Número de Identificação:

Idade:

Sexo: (1) masculino

(2) feminino

Grupo do leite e derivados	Quantas vezes você come	Unidade 1 2 3	P25 P(1)	P50 M(2)	P75 G(3)	CODIF.
Leite integral	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	200 ml -----	240ml -----	250ml	
Leite desnatado	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	200 ml -----	240ml -----	250ml	
logurte natural Integral	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	80ml -----	120ml -----	140ml	
logurte com frutas	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	80ml -----	120ml -----	140ml	
Queijo fresco ou ricota	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	15g -----	20g -----	25g	
Queijos amarelos	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	10g -----	15g -----	25g	
Requeijão	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	10g -----	15g -----	30g	
Grupo dos pães e cereais matinais	Quantas vezes você come	Unidade 1 2 3	P25 P(1)	P50 M(2)	P75 G(3)	CODIF.
Pão francês, forma, outros	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	25 g -----	50g -----	75g	
Pão doce, queijo, croissant	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	25 g -----	50g -----	60g	
Biscoitos doces/ salgados ou torradas	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	30 g -----	52g -----	65g	
Aveia, granola, barra de cereais e sucrilhos	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	20g -----	38g -----	40g	
Gorduras	Quantas vezes você come	Unidade 1 2 3	P25 P(1)	P50 M(2)	P75 G(3)	CODIF.
Margarina comum	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	4 g -----	6g -----	10g	
Manteiga	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	4 g -----	6g -----	8,5g	
Maionese	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	12g -----	27g -----	35g	
Cereais. Tubérculos e massas	Quantas vezes você come		P25 P(1)	P50 M(2)	P75 G(3)	CODIF.
Arroz branco	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	60g -----	75g -----	100g	
Batata, Mandioca Polenta fritas	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	50g -----	65g -----	112g	

Batata, MandiocaPolenta (não fritos)	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	30 g ----- 50g ----- 100 g	
Milho Verde	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	48g ----- 66g ----- 103g	
Massas: macarrão, lasanha, nhoque	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	100g.----- 125g ----- 200g	
Salgados e tortas	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	48g ----- 80g ----- 96g	
Pizza	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	55g ----- 125g ----- 180g	
Farofa, farinha de milho	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	15g ----- 20g ----- 30g	
Grupo das frutas	Quantas vezes você come	Unidade 1 2 3	P25 P50 P75 P(1) M(2) G(3)	CODIF.
Laranja, mixirica, pokan	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	90g ----- 107g ----- 180g	
Banana	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	40g ----- 65g ----- 120g	
Maçã, pêra	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	60g ----- 80g ----- 110g	
Mamão, papaya	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	100g ----- 117g ----- 135g	
Melancia, Melão	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	81g ----- 132g ----- 150g	
Uva/ abacaxi/ goiaba na época	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	95g ----- 116g ----- 170g	
Manga, caqui, na época	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	20g ----- 40g ----- 60g	
Outras frutas	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	10g ----- 25g ----- 60g	
Suco de laranja natural	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	165ml ----- 200ml ----- 250ml	
Suco de outras frutas	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	165 ml ----- 200ml ----- 250ml	
Grupo das leguminosas	Quantas vezes você come		P25 P50 P75 P(1) M(2) G(3)	CODIF.
Feijão roxo, carioca	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	34g ----- 65g ----- 70g	
Feijoada	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	55g ----- 140g ----- 225g	
Grupo de verduras/ legumes	Quantas vezes você come	Unidade 1 2 3	P25 P50 P75 P(1) M(2) G(3)	CODIF.
Alface, escarola, agrião, rúcula, almeirão	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	20g ----- 35g ----- 40g	
Repolho/ acelga/ couve/ espinafre	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	23,5g ----- 33g ----- 50g	
Couve-flor/ brócolis	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	25g ----- 32g ----- 56g	

Cenoura/ abóbora	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	11g ----- 20g ----- 30g	
Tomate	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	30g ----- 37g ----- 44g	
Berinjela	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	20g ----- 30g ----- 62,5g	
Beterraba	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	18g ----- 30g ----- 48g	
Vagem, chuchu, abobrinha	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	12,5g ----- 25g ----- 40g	
Sopas	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	182g ----- 290g ----- 325g	
Grupo das carnes e ovos	Quantas vezes você come	Unidade 1 2 3	P25 P(1) P50 M(2) P75 G(3)	CODIF.
Carne bovina sem gordura	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	50g ----- 80g ----- 100g	
Carne bovina com gordura	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	50g ----- 80g ----- 100g	
Carne de Porco s/ Gordura	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	50g ----- 80g ----- 100g	
Carne de Porco c/ Gordura	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	50g ----- 80g ----- 100g	
Carne de frango ou de outras aves sem pele	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	46g ----- 90g ----- 125g	
Carne de frango ou de outras aves com pele	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	46g ----- 90g ----- 125g	
Peixes	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	50g ----- 100g ----- 165g	
Lingüiça, salsicha	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	50g ----- 60g ----- 120g	
Ovo cozido	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	25g ----- 50g ----- 75g	
Ovo frito	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	25g ----- 62g ----- 90g	
Presunto, mortadela	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	10g ----- 15g ----- 25g	
Grupo das bebidas	Quantas vezes você come	Unidade 1 2 3	P25 P(1) P50 M(2) P75 G(3)	CODIF.
Café com açúcar	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	50ml ----- 100ml	
Chá preto ou mate	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	85ml ----- 165ml ----- 200ml	
Chá de ervas	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	85ml ----- 165ml ----- 200ml	
Água	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	165ml ----- 200ml ----- 240ml	
Sucos artificiais	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	165ml ----- 200ml ----- 240ml	
Refrigera- nte diet	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	100ml ----- 165ml ----- 250ml	
Refrigera- nte normal	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	165ml ----- 200ml ----- 240ml	
Refrigera- nte fosfatado	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	165ml ----- 200ml ----- 240ml	
Grupo de doces e miscelâ- neas	Quantas vezes você come	Unidade 1 2 3	P25 P(1) P50 M(2) P75 G(3)	CODIF.

Bolo, tortas, pavês	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	30g ----- 50g ----- 60g	
Chocolate ou brigadeiro	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	20g ----- 30g ----- 42g	
Mel ou geléia	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	9g ----- 13,5g ----- 18g	
Sorvetes, milk-shake	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	70g ----- 115g ----- 160g	
Pudins, doces com leite	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	50g ----- 65g ----- 80g	
Doces de frutas	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	30g ----- 40g ----- 55g	
Pipoca, Chips, outros	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	20g ----- 50g ----- 75g	
Açúcar	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	12g ----- 24g ----- 48g	
Achocolado	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	4g ----- 8g ----- 16g	

1)	Quantas vezes você come	Unidade	CODIF
Com que frequência você usa gordura ou óleo no preparo de suas refeições?	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	
Quantas porções de vegetais (verduras e legumes) você costuma comer, sem incluir batatas ou saladas de maionese?	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	
Quantas porções de frutas você costuma comer, sem incluir sucos de frutas?	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	

2) Por favor, informe qualquer outro alimento ou preparação que você costuma comer ou beber e que não tenha sido citado aqui

Alimento	Frequência	Quantidade Consumida	Código do alimento	Codificação
			---	-----
			---	-----
			---	-----

3) Quantas refeições você faz por dia? ____

4) Que tipo de óleo/gordura você costuma usar no cozimento/preparo de refeições?

(00) Não usa	(04) Óleo de soja/milho/outros
(01) Margarina	(05) Bacon
(02) Manteiga	(06) Banha
(03) Azeite de oliva	(99) Não sabe/não cozinha

5) **a)** Quando você come carne de boi/vaca ou de porco, você costuma comer a gordura visível?

(1) Nunca/raramente	(2) Algumas vezes	(3) Sempre

b) Quando você come carne de frango, costuma comer a pele?

(1) Nunca/raramente	(2) Algumas vezes	(3) Sempre

6) Você costuma acrescentar sal na comida depois de pronta?

(1) Nunca/raramente	(2) Algumas vezes	(3) Sempre

7) Quando você come queijo/requeijão, iogurte/sorvete, maionese/molhos para salada, com que frequência esses alimentos são do tipo light?

- Iogurte/sorvete	(1) Sempre	(2) Algumas vezes	(3) raramente ou não come
	(9) não sabe		
- Maionese/molhos	(1) Sempre	(2) Algumas vezes	(3) raramente ou não come
	(9) não sabe		
- Queijo/requeijão	(1) Sempre	(2) Algumas vezes	(3) raramente ou não come
	(9) não sabe		

5. Lista com os alimentos padronizados para inserção no Programa de Análise do Consumo Alimentar.

Leite, de vaca, integral (DIETWIN)
Leite, desnatado (DIETWIN)
Leite, semi-desnatado (DIETWIN)
logurte, natural (DIETWIN)
logurte, natural, desnatado (TACO)
logurte, sabor morango (DIETWIN)
Queijo, minas/frescal (DIETWIN)
Queijo, mozzarella (DIETWIN)
Queijo, ricota (DIETWIN)
Requeijão, cremoso (DIETWIN)
Requeijão, cremoso, light (DIETWIN)
Pão, glúten, forma (TACO)
Pão, trigo, forma, integral (TACO)
Pão, trigo, francês (DIETWIN)
Pão, de queijo, assado (DIETWIN)
Pão, trigo, sovado (TACO)
Croissant (DIETWIN)
Biscoito, doce, maisena (TACO)
Biscoito, doce, wafer, recheado de chocolate (TACO)
Biscoito, doce, recheado com chocolate (TACO)
Biscoito, salgado, cream cracker (TACO)
Torrada, pão francês (DIETWIN)
Biscoito, polvilho doce (DIETWIN)
Aveia, flocos, crua (DIETWIN)
Granola (DIETWIN)
Barra de cereais, frutas, castanha-do-pará e chocolate (DIETWIN)
Cereal matinal, corn flakes (DIETWIN)
Margarina, com óleo interesterificado, com sal (65%) (TACO)
Manteiga, com sal (DIETWIN)
Maionese, hellmanns (DIETWIN)
Maionese, hellmanns, light (DIETWIN)
Arroz, tipo 1, cozido (DIETWIN)
Arroz, integral, cozido (DIETWIN)
Batata, inglesa, cozida (TACO)

Batata, inglesa, frita (TACO)
Mandioca, cozida (TACO)
Mandioca, frita (TACO)
Polenta frita (DIETWIN)
Polenta, pré-cozida (DIETWIN)
Milho, verde, enlatado, drenado (DIETWIN)
Macarrão, instantâneo (DIETWIN)
Macarrão, cozido (DIETWIN)
Lasanha, bolonhesa ® (DIETWIN)
Nhoque, batata, cozido (TACO)
Pastel, de carne, frito (TACO)
Pastel, de queijo, frito (TACO)
Rissoles de galinha (aniversário) (DIETWIN)
Rissoles de palmito (DIETWIN)
Quibe, assado (TACO)
Quibe, frito (TACO)
Coxinha de frango, frita (TACO)
Empada de frango, pré-cozida, assada (TACO)
Esfirras de resíduo e PVT (DIETWIN))
Torta de frango (DIETWIN)
Pizza, de mussarela (DIETWIN)
Mandioca, farofa, temperada (TACO)
Farinha, de milho, amarela (DIETWIN)
Laranja, pêra, crua (TACO)
Mexerica, murcote, crua (TACO)
Banana, nanica, crua (TACO)
Maçã, fuji, com casca, crua (TACO)
Pêra, williams, crua (TACO)
Mamão, formosa, cru (DIETWIN)
Mamão, papaia, cru (DIETWIN)
Melancia, crua (DIETWIN)
Melão, cru (DIETWIN)
Uva, rubi, crua (DIETWIN)
Abacaxi, cru (DIETWIN)
Goiaba, vermelha, com casca, crua (TACO)
Manga, palmer, crua (TACO)
Caqui, cru (DIETWIN)
Morango, cru (DIETWIN)
Pêssego, aurora, cru (DIETWIN)

Kiwi, cru (DIETWIN)
Carambola, crua (DIETWIN)
Laranja, pêra, suco (TACO)
Abacaxi, suco (DIETWIN)
Feijão, carioca, cozido (DIETWIN)
Grão-de-bico, cru (DIETWIN)
Ervilha, enlatada, drenada (DIETWIN)
Soja, em conserva (DIETWIN)
Feijoadada (DIETWIN)
Alface, americana, crua (DIETWIN)
Chicória, crua (DIETWIN)
Agrião, cru (DIETWIN)
Rúcula (DIETWIN)
Almeirão, cru (DIETWIN)
Repolho, branco, cru (DIETWIN)
Acelga, crua (DIETWIN)
Couve, refogada (DIETWIN))
Couve-flor, cozida (DIETWIN)
Cenoura, cozida (DIETWIN)
Cenoura, crua (DIETWIN)
Abóbora, cabotian, cozida (TACO)
Tomate, com semente, cru (DIETWIN)
Berinjela, cozida (TACO)
Beterraba, crua (DIETWIN)
Vagem à juliana (DIETWIN))
Chuchu ensopado (DIETWIN)
Abobrinha, verde, com casca (DIETWIN))
Sopa de legumes, carne e arroz (DIETWIN))
Carne, bovina, moída, magra (DIETWIN)
Bife acebolado simples (DIETWIN)
Carne de Panela (DIETWIN)
Bife empanado (DIETWIN)
Porco, bisteca, grelhada (TACO)
Frango, coxa, com pele, assada(DIETWIN)
Frango, coxa, sem pele, cozida (DIETWIN)
Frango, peito, sem pele, grelhado
Frango, filé, à milanesa (DIETWIN)
Peixe, salmão, sem pele, fresco, cru (TACO)
Filé de peixe grelhado (DIETWIN)

Filé de peixe a dorê (DIETWIN)
Linguiça, porco, frita (TACO)
Embutido, salsicha hot dog, à granel (DIETWIN)
Ovo, de galinha, inteiro, cozido/10 minutos (TACO)
Ovo, frito (DIETWIN)
Presunto, sem capa de gordura (TACO)
Embutido, mortadela (TACO)
Embutido, peito de peru, defumado ® (DIETWIN)
Café, infusão 10% (TACO)
Chá, erva-doce, infusão 5% (TACO)
Chá, mate, infusão 5% (TACO)
Chá, preto, infusão 5% (TACO)
Água (DIETWIN)
Refresco, laranja, pó (DIETWIN)
Refrigerante, light (DIETWIN)
Refrigerante, tipo cola (TACO)
Refrigerante, tipo guaraná (TACO)
Bolo, pronto, chocolate (TACO)
Bolo, inglês (DIETWIN)
Recheio pronto, sabor chocolate (DIETWIN)
Cobertura, chocolate com leite (DIETWIN)
Torta de creme (DIETWIN)
Pavê de chocolate (DIETWIN)
Chocolate, ao leite (TACO)
Brigadeiro (DIETWIN)
Mel, de abelha (TACO)
Geléia, de frutas (DIETWIN)
Sorvete, de creme (DIETWIN)
Picolé, de frutas (DIETWIN)
Milkshake, chocolate DIETWIN)
Pudim leite condensado (DIETWIN)
Doce, de leite, cremoso (TACO)
Doce, de abóbora, cremoso (TACO)
Pipoca, com óleo de soja, sem sal (TACO)
Salgadinhos, milho, corn chips ® (DIETWIN)
Açúcar, refinado (TACO)
Achocolatado, pó (DIETWIN)
Óleo, de soja (DIETWIN)

6. Caracterização da amostra estudada

Tabela 1 – Caracterização da amostra estudada. São apresentados a média, o desvio padrão da média, a mediana, o valor mínimo e o valor máximo dos dados analisados (idade, antropometria, composição corporal, ingestão alimentar e exames bioquímicos).

Variável	Média	Desvio Padrão	Mediana	Mínimo	Máximo
Idade no M1	11,39	1,10	12,00	9,00	13,00
Altura (cm) M1	152,07	9,50	152,60	126,00	175,90
Altura (cm) M2	153,08	9,35	153,55	127,00	176,60
Altura (cm) M3	153,63	9,39	154,35	127,80	177,10
Peso (kg) M1	48,40	16,72	44,65	23,95	123,15
Peso (kg) M2	49,04	16,88	45,25	24,70	124,45
Peso (kg) M3	49,39	16,79	46,48	25,40	124,80
IMC (kg/m ²) M1	20,55	5,36	19,31	13,53	41,25
IMC (kg/m ²) M2	20,56	5,40	19,30	13,47	41,41
IMC (kg/m ²) M3	20,57	5,33	19,53	13,35	39,97
CC (cm) M1	73,98	15,01	70,50	43,60	127,40
CC (cm) M2	74,79	15,10	71,20	52,70	130,00
CC (cm) M3	74,86	14,62	72,65	53,60	129,90
MM (% peso) M1	75,02	7,20	75,87	60,34	92,35
MM (% peso) M2	75,16	6,96	76,33	60,20	88,21
MM (% peso) M3	75,15	7,05	76,40	59,05	88,18
MG (% peso) M1	24,97	7,14	24,03	7,64	39,57
MG (% peso) M2	24,73	6,97	23,86	11,67	39,80
MG (% peso) M3	24,77	7,06	23,56	11,81	40,94
ACT (% peso) M1	72,64	2,68	73,20	65,90	77,60
ACT (% peso) M2	72,72	2,57	73,20	66,40	77,30
ACT (% peso) M3	72,72	2,66	73,35	65,80	79,50
E (kcal/dia) M1	2159,65	839,83	2011,00	700,00	5562,00
E (kcal/dia) M2	1820,91	718,78	1663,00	521,00	5384,00
E (kcal/dia) M3	1748,77	710,25	1590,00	690,00	4718,00
CHO (g/dia) M1	282,24	120,90	251,15	90,79	768,74
CHO (g/dia) M2	243,74	108,34	216,40	51,54	698,92
CHO (g/dia) M3	226,70	103,15	201,31	77,78	651,92
LIP (g/dia) M1	81,59	34,57	75,80	23,68	249,85
LIP (g/dia) M2	67,30	30,36	61,53	23,97	261,05
LIP (g/dia) M3	66,13	28,18	61,38	22,87	217,29
PTN (g/dia) M1	74,20	31,12	70,05	28,73	264,30
PTN (g/dia) M2	62,43	33,11	57,06	16,97	293,67
PTN (g/dia) M3	61,69	28,06	54,12	14,16	201,45
Vit. A (µg/dia) M1	423,60	309,86	365,28	52,01	2773,96
Vit. A (µg/dia) M2	1043,84	336,30	982,62	590,73	2566,45

Vit. A (µg/dia) M3	386,92	315,17	296,25	20,91	2621,24
Vit. D (µg/dia) M1	3,14	2,69	2,43	0,00	19,80
Vit. D (µg/dia) M2	6,34	1,98	5,84	3,40	13,41
Vit. D (µg/dia) M3	2,95	2,09	2,35	0,03	12,10
Vit. E (mg/dia) M1	22,11	11,50	20,39	0,42	52,97
Vit. E (mg/dia) M2	26,37	26,08	23,14	6,60	252,46
Vit. E (mg/dia) M3	17,67	10,63	16,61	1,05	51,86
Vit. C (mg/dia) M1	119,46	125,03	80,56	8,97	782,71
Vit. C (mg/dia) M2	147,48	106,16	109,29	49,23	647,75
Vit. C (mg/dia) M3	82,08	94,00	55,94	1,73	505,96
Folato (µg/dia) M1	107,56	89,01	93,87	7,04	911,88
Folato (µg/dia) M2	249,00	72,76	237,48	136,58	640,94
Folato (µg/dia) M3	90,81	58,91	79,34	5,29	499,92
Vit. B1 (mg/dia) M1	1,42	0,77	1,24	0,36	5,78
Vit. B1 (mg/dia) M2	2,35	0,64	2,23	1,15	4,87
Vit. B1 (mg/dia) M3	1,18	0,55	1,09	0,37	4,02
Vit. B2 (mg/dia) M1	1,63	0,85	1,45	0,14	5,93
Vit. B2 (mg/dia) M2	2,88	0,78	2,79	1,33	4,72
Vit. B2 (mg/dia) M3	1,44	0,69	1,31	0,25	4,43
Vit. B3 (mg/dia) M1	19,53	10,93	17,60	5,15	85,72
Vit. B3 (mg/dia) M2	30,59	8,17	28,90	18,05	59,25
Vit. B3 (mg/dia) M3	16,53	7,72	15,44	4,49	37,69
Vit. B6 (mg/dia) M1	1,36	0,69	1,24	0,37	5,63
Vit. B6 (mg/dia) M2	2,81	0,67	2,76	1,53	5,01
Vit. B6 (mg/dia) M3	1,11	0,52	1,02	0,21	3,02
Vit. B12 (µg/dia) M1	2,89	1,77	2,55	0,35	11,02
Vit. B12 (µg/dia) M2	2,92	1,27	2,67	0,96	7,10
Vit. B12 (µg/dia) M3	2,36	1,19	2,17	0,18	6,58
Ca (mg/dia) M1	724,95	386,03	672,88	195,38	3167,77
Ca (mg/dia) M2	854,89	291,50	789,74	360,94	1717,04
Ca (mg/dia) M3	632,00	730,68	514,48	130,82	8434,85
Ferro (mg/dia) M1	10,56	5,92	9,57	3,57	57,19
Ferro (mg/dia) M2	14,10	4,57	13,22	6,00	30,39
Ferro (mg/dia) M3	8,54	4,82	7,55	1,85	41,87
Mg (mg) /dia M1	269,50	110,31	252,12	67,49	639,28
Mg (mg/dia) M2	341,40	111,83	325,84	150,79	702,06
Mg (mg/dia) M3	230,61	101,95	204,24	49,62	626,72
P (mg/dia) M1	1023,56	400,56	962,81	307,26	2944,60
P (mg/dia) M2	1035,85	341,57	974,45	370,01	2366,95
P (mg/dia) M3	856,71	332,09	797,25	196,80	1897,63
Zn (mg/dia) M1	10,31	4,53	9,34	3,07	27,93
Zn (mg/dia) M2	13,51	3,97	12,93	6,51	33,05
Zn (mg/dia) M3	8,49	3,42	7,73	2,86	19,24
Albumina (g/dl) M1	4,55	0,18	4,50	3,90	5,00
Albumina (g/dl) M2	4,49	0,17	4,50	3,90	4,80

Albumina (g/dl) M3	4,48	0,14	4,50	4,10	4,80
Glicemia (mg/dl) M1	92,77	7,85	92,00	76,00	136,00
Glicemia (mg/dl) M2	90,61	6,81	91,00	73,00	126,00
Glicemia (mg/dl) M3	90,86	6,06	90,50	74,00	113,00
CT (mg/dl) M1	164,67	30,89	164,00	74,00	251,00
CT (mg/dl) M2	156,28	27,18	155,00	88,00	233,00
CT (mg/dl) M3	155,21	27,19	154,00	85,00	232,00
TG (mg/dl) M1	74,62	35,98	68,00	18,00	220,00
TG (mg/dl) M2	78,37	52,04	65,00	22,00	385,00
TG (mg/dl) M3	73,65	40,35	64,50	18,00	234,00
VLDL (mg/dl) M1	14,95	7,19	14,00	4,00	44,00
VLDL (mg/dl) M2	15,44	10,50	13,00	0,00	77,00
VLDL (mg/dl) M3	14,80	8,06	13,00	4,00	47,00
LDL (mg/dl) M1	104,47	25,97	105,00	38,00	180,00
LDL (mg/dl) M2	94,78	22,73	93,00	27,00	151,00
LDL (mg/dl) M3	95,78	23,44	95,00	41,00	165,00
HDL (mg/dl) M1	45,22	9,75	45,00	23,00	75,00
HDL (mg/dl) M2	45,82	10,47	45,00	19,00	77,00
HDL (mg/dl) M3	44,71	10,23	45,00	24,00	74,00
PCR (mg/dl) M1	0,14	0,19	0,06	0,00	1,02
PCR (mg/dl) M2	0,29	0,52	0,09	0,00	3,25
PCR (mg/dl) M3	0,28	0,91	0,07	0,00	7,87
UIBC (mg/dl) M1	237,85	43,93	237,00	131,00	358,00
UIBC (mg/dl) M2	230,73	45,49	230,00	55,00	350,00
UIBC (mg/dl) M3	241,79	44,31	244,00	127,00	350,00
Ferro (µg/dl) M1	93,74	28,82	92,00	22,00	194,00
Ferro (µg/dl) M2	79,43	30,88	76,00	13,00	207,00
Ferro (µg/dl) M3	88,49	31,02	82,50	23,00	178,00
CL (células/ml) M1	6,85	1,87	6,63	3,32	13,80
CL (células/ml) M2	7,03	2,74	6,65	2,95	26,00
CL (células/ml) M3	7,06	2,14	6,77	3,77	17,80
Hb (g/dl) M1	13,82	0,91	13,90	10,40	15,90
Hb (g/dl) M2	13,57	0,85	13,60	10,80	15,80
Hb (g/dl) M3	13,83	0,86	13,80	11,30	15,80
VCM (fL) M1	84,90	3,88	85,00	71,00	93,70
VCM (fL) M2	86,21	3,94	86,70	71,10	95,00
VCM (fL) M3	83,12	3,75	83,35	69,80	91,40

M1: momento um (antes da suplementação); M2: momento dois (após seis semanas de suplementação); M3: momento três (após outras seis semanas sem suplementação); IMC: índice de massa corporal; CC: circunferência de cintura; MM: massa magra; MG: massa gorda; ACT: água corporal total; QFA: questionário de frequência alimentar; E: energia total; CHO: carboidrato; LIP: lipídeo; PTN: proteína; Vit.: vitamina; Mg: magnésio; P: fósforo; Zn: zinco; Ca: cálcio; CT: colesterol total sérico; TG: triglicérides sérico; VLDL: VLDL colesterol (very low density lipoprotein); LDL: LDL colesterol (low density lipoprotein); HDL: HDL colesterol (high density lipoprotein); PCR: proteína C reativa; UIBC: capacidade latente de ligação de ferro; CL: concentração de leucócitos; Hb: hemoglobina; VCM: volume corpuscular médio; cm: centímetro; kg: quilograma; m²: metro quadrado; %: porcentagem; kcal: quilocaloria; g: grama; mg: miligrama; µg: micrograma; dl: decilitro; ml: mililitro; fL: femtolitro.

7. Clusterização dos indivíduos participantes.

Tabela 2 – Clusterização dos indivíduos participantes utilizando como critério seu perfil metabólico (níveis de glicemia, colesterol total, triglicérides, VLDL colesterol, LDL colesterol e HDL colesterol), por meio da técnica estatística K-cluster. Os resultados estão apresentados em valores médios, de acordo com o período do estudo: primeiro (“M1”), segundo (“M2”) e terceiro momento (“M3”), de acordo com a análise de ANOVA.

Variável	Cluster 1 (n = 111)	Cluster 2 (n = 25)	P valor
Glicemia (mg/dl) M1	92,50	94,56	0,244
Glicemia (mg/dl) M2	89,63	95,08	0,000
Glicemia (mg/dl) M3	90,20	93,80	0,007
Colesterol Total (mg/dl) M1	157,68	195,40	0,000
Colesterol Total (mg/dl) M2	150,62	180,64	0,000
Colesterol Total (mg/dl) M3	150,59	175,72	0,000
Triglicérides (mg/dl) M1	65,14	119,32	0,000
Triglicérides (mg/dl) M2	60,25	159,04	0,000
Triglicérides (mg/dl) M3	63,83	117,28	0,000
VLDL colesterol (mg/dl) M1	13,05	23,84	0,000
VLDL colesterol (mg/dl) M2	12,05	31,76	0,000
VLDL colesterol (mg/dl) M3	12,83	23,56	0,000
LDL colesterol (mg/dl) M1	98,43	129,80	0,000
LDL colesterol (mg/dl) M2	91,42	108,24	0,001
LDL colesterol (mg/dl) M3	92,11	112,08	0,000
HDL colesterol (mg/dl) M1	46,12	41,80	0,047
HDL colesterol (mg/dl) M2	47,14	40,60	0,005

HDL colesterol (mg/dl) M3	45,72	40,20	0,014

VLDL: VLDL colesterol (very low density lipoprotein); LDL: LDL colesterol (low density lipoprotein); HDL: HDL colesterol (high density lipoprotein); M1: momento 1; M2: momento 2; M3: momento 3; ml: mililitro; dl: decilitro.

8. Comparação entre a porcentagem de indivíduos com alteração na glicemia e nos lípides séricos em cada cluster de acordo com o momento do estudo

Tabela 3 – Comparação entre a porcentagem de indivíduos que apresentaram alteração na glicemia e nos lípides séricos em cada cluster, de acordo com a análise estatística do Qui-Quadrado. Os resultados estão apresentados em porcentagem e conforme o período do estudo: momento 1 (“M1”), momento 2 (“M2”), momento 3 (“M3”).

Variável	Cluster 1	Cluster 2	p valor
Glicemia M1 (%)	9,91	16,00	0,380
Glicemia M2 (%)	4,50	12,00	0,150
Glicemia M3 (%)	1,80	8,00	0,014
Colesterol Total M1 (%)	4,50	52,00	0,000
Colesterol Total M2 (%)	0,90	32,00	0,000
Colesterol Total M3 (%)	1,80	16,00	0,002
Triglicerídeos M1 (%)	0,00	20,00	0,000
Triglicerídeos M2 (%)	0,90	36,00	0,000
Triglicerídeos M3 (%)	0,90	24,00	0,000
VLDL M1 (%)	0,90	3,60	0,003
VLDL M2 (%)	0,90	3,60	0,000
VLDL M3 (%)	0,90	3,60	0,000
LDL M1 (%)	6,31	44,00	0,000
LDL M2 (%)	2,70	28,00	0,000
LDL M3 (%)	4,50	28,00	0,000
HDL M1 (%)	15,32	28,00	0,133
HDL M2 (%)	12,61	40,00	0,001
HDL M3 (%)	17,12	32,00	0,092

VLDL: VLDL colesterol (very low density lipoprotein); LDL: LDL colesterol (low density lipoprotein); HDL: HDL colesterol (high density lipoprotein); M1: momento 1; M2: momento 2; M3: momento 3; %: porcentagem.

9. Resultados apresentados pelo Cluster 1

Tabela 4 – Análise descritiva dos dados apresentados pelos indivíduos do Cluster 1.

Variável	Média	Desvio Padrão	Mediana	Mínimo	Máximo
Idade no M1	11,40	1,13	12,00	9,00	13,00
Altura (cm) M1	151,79	9,70	152,60	126,00	175,10
Altura (cm) M2	152,68	9,75	153,80	127,00	176,60
Altura (cm) M3	153,20	9,69	154,70	127,80	177,10
Peso (kg) M1	45,92	14,41	43,60	23,95	97,75
Peso (kg) M2	46,41	14,47	43,65	24,70	97,55
Peso (kg) M3	46,71	14,35	44,55	25,40	97,55
IMC (kg/m ²) M1	19,58	4,45	18,54	13,53	32,52
IMC (kg/m ²) M2	19,57	4,42	18,52	13,47	32,22
IMC (kg/m ²) M3	19,58	4,41	18,35	13,35	31,90
CC (cm) M1	71,76	12,71	69,20	53,40	112,90
CC (cm) M2	72,13	12,80	69,20	52,70	112,50
CC (cm) M3	72,26	12,58	69,70	53,60	111,70
MM (% peso) M1	76,18	6,77	77,30	62,30	92,35
MM (% peso) M2	76,29	6,54	77,10	62,76	88,21
MM (% peso) M3	76,32	6,59	77,52	61,03	88,18
MG (% peso) M1	23,82	6,70	22,58	7,64	37,70
MG (% peso) M2	23,59	6,54	22,82	11,67	37,23
MG (% peso) M3	23,60	6,59	22,48	11,81	38,89
ACT (% peso) M1	73,06	2,48	73,40	65,90	77,60
ACT (% peso) M2	73,14	2,34	73,80	67,60	77,30
ACT (% peso) M3	73,17	2,45	73,70	66,90	79,50
E (kcal/dia) M1	2205,68	843,69	2082,00	700,00	5562,00
E (kcal/dia) M2	1802,24	654,84	1698,00	521,00	4005,00
E (kcal/dia) M3	1711,40	674,56	1570,00	690,00	3911,00
CHO (g/dia) M1	290,58	120,57	257,11	90,79	768,74
CHO (g/dia) M2	243,00	104,59	217,29	51,54	698,92
CHO (g/dia) M3	223,95	102,52	204,17	77,78	651,92
LIP (g/dia) M1	82,60	35,18	77,33	23,68	249,85
LIP (g/dia) M2	65,96	25,98	60,85	23,97	167,00
LIP (g/dia) M3	64,10	24,92	60,11	22,87	166,11
PTN (g/dia) M1	75,11	32,75	69,49	28,73	264,30
PTN (g/dia) M2	62,10	32,22	57,66	16,97	293,67
PTN (g/dia) M3	59,65	25,63	53,71	14,16	164,74
Vit. A (µg/dia) M1	446,59	330,03	384,17	52,01	2773,96
Vit. A (µg/dia) M2	1043,07	322,44	966,85	590,73	2439,90
Vit. A (µg/dia) M3	393,29	337,55	280,27	20,91	2621,24
Vit. D (µg/dia) M1	3,33	2,75	2,70	0,00	19,80

Vit. D (µg/dia) M2	6,43	2,06	5,91	3,40	13,41
Vit. D (µg/dia) M3	3,07	2,19	2,38	0,03	12,10
Vit. E (mg/dia) M1	21,90	11,31	19,53	0,42	52,97
Vit. E (mg/dia) M2	27,22	28,29	24,07	6,60	252,46
Vit. E (mg/dia) M3	17,51	10,05	17,20	1,05	51,86
Vit. C (mg/dia) M1	125,54	133,33	82,10	9,11	782,71
Vit. C (mg/dia) M2	143,97	106,53	107,99	50,24	647,75
Vit. C (mg/dia) M3	78,21	86,68	53,46	1,73	505,96
Folato (µg/dia) M1	112,14	97,00	96,15	7,04	911,88
Folato (µg/dia) M2	246,19	65,84	237,48	136,58	580,51
Folato (µg/dia) M3	91,35	61,05	82,05	5,29	499,92
Vit. B1 (mg/dia) M1	1,47	0,82	1,28	0,36	5,78
Vit. B1 (mg/dia) M2	2,34	0,64	2,23	1,15	4,87
Vit. B1 (mg/dia) M3	1,17	0,56	1,06	0,37	4,02
Vit. B2 (mg/dia) M1	1,69	0,86	1,52	0,14	5,93
Vit. B2 (mg/dia) M2	2,91	0,78	2,79	1,33	4,72
Vit. B2 (mg/dia) M3	1,46	0,72	1,34	0,25	4,43
Vit. B3 (mg/dia) M1	20,14	11,87	18,47	5,15	85,72
Vit. B3 (mg/dia) M2	30,62	7,98	29,24	18,05	59,25
Vit. B3 (mg/dia) M3	16,49	7,89	15,57	4,49	37,69
Vit. B6 (mg/dia) M1	1,39	0,73	1,24	0,37	5,63
Vit. B6 (mg/dia) M2	2,79	0,65	2,73	1,53	5,01
Vit. B6 (mg/dia) M3	1,12	0,53	1,03	0,21	3,02
Vit. B12 (µg/dia) M1	2,88	1,72	2,58	0,35	11,02
Vit. B12 (µg/dia) M2	2,92	1,30	2,63	0,96	7,10
Vit. B12 (µg/dia) M3	2,36	1,24	2,17	0,18	6,58
Ca (mg/dia) M1	753,33	399,59	691,32	211,95	3167,77
Ca (mg/dia) M2	864,03	285,85	801,24	360,94	1717,04
Ca (mg/dia) M3	585,66	297,19	522,95	130,82	1982,05
Ferro (mg/dia) M1	10,75	6,14	9,62	3,57	57,19
Ferro (mg/dia) M2	13,95	4,35	13,22	6,00	30,39
Ferro (mg/dia) M3	8,28	4,03	7,60	1,85	25,69
Mg (mg/dia) M1	275,09	115,03	259,64	67,49	639,28
Mg (mg/dia) M2	337,18	107,02	325,84	150,79	693,81
Mg (mg/dia) M3	229,71	103,42	205,03	49,62	626,72
P (mg/dia) M1	1044,02	411,40	979,30	307,26	2944,60
P (mg/dia) M2	1037,49	323,97	1001,13	370,01	1851,92
P (mg/dia) M3	855,71	342,60	825,26	196,80	1897,63
Zn (mg/dia) M1	10,44	4,50	9,40	3,07	27,93
Zn (mg/dia) M2	13,29	3,52	12,87	6,51	23,96
Zn (mg/dia) M3	8,36	3,43	7,72	2,86	19,24
Albumina (g/dl) M1	4,55	0,19	4,50	3,90	5,00
Albumina (g/dl) M2	4,49	0,17	4,50	3,90	4,80
Albumina (g/dl) M3	4,48	0,14	4,50	4,10	4,80
Glicemia (mg/dl) M1	92,50	8,04	91,00	76,00	136,00

Glicemia (mg/dl) M2	89,63	5,84	90,00	73,00	104,00
Glicemia (mg/dl) M3	90,20	5,73	90,00	74,00	103,00
CT (mg/dl) M1	157,68	26,66	157,00	74,00	225,00
CT (mg/dl) M2	150,62	23,76	152,00	88,00	201,00
CT (mg/dl) M3	150,59	24,56	151,00	85,00	212,00
TG (mg/dl) M1	65,14	27,48	61,00	18,00	153,00
TG (mg/dl) M2	60,25	23,87	58,00	22,00	154,00
TG (mg/dl) M3	63,83	28,47	61,00	18,00	180,00
VLDL (mg/dl) M1	13,05	5,50	12,00	4,00	31,00
VLDL (mg/dl) M2	12,05	4,77	12,00	4,00	31,00
VLDL (mg/dl) M3	12,83	5,71	12,00	4,00	36,00
LDL (mg/dl) M1	98,43	22,29	98,00	38,00	159,00
LDL (mg/dl) M2	91,42	19,89	91,00	44,00	136,00
LDL (mg/dl) M3	92,11	21,28	90,00	41,00	136,00
HDL (mg/dl) M1	46,12	9,61	46,00	23,00	75,00
HDL (mg/dl) M2	47,14	10,09	48,00	19,00	77,00
HDL (mg/dl) M3	45,72	10,08	46,00	24,00	74,00
PCR (mg/dl) M1	0,12	0,17	0,06	0,00	1,02
PCR (mg/dl) M2	0,26	0,48	0,07	0,00	3,25
PCR (mg/dl) M3	0,19	0,66	0,05	0,00	6,73
UIBC (mg/dl) M1	230,20	44,63	227,00	131,00	358,00
UIBC (mg/dl) M2	224,59	46,31	223,00	55,00	320,00
UIBC (mg/dl) M3	236,03	44,32	236,00	127,00	350,00
Ferro (µg/dl) M1	96,95	29,57	94,00	22,00	194,00
Ferro (µg/dl) M2	81,14	31,96	76,00	13,00	207,00
Ferro (µg/dl) M3	90,32	31,20	85,00	23,00	178,00
CL (células/ml) M1	6,68	1,82	6,49	3,32	13,80
CL (células/ml) M2	6,84	2,78	6,55	3,05	26,00
CL (células/ml) M3	6,89	2,02	6,66	3,77	17,80
Hb (g/dl) M1	13,83	0,92	13,90	10,40	15,90
Hb (g/dl) M2	13,54	0,83	13,60	10,80	15,80
Hb (g/dl) M3	13,82	0,88	13,80	11,30	15,80
VCM (fL) M1	85,30	3,36	85,40	77,30	93,40
VCM (fL) M2	86,66	3,32	87,00	77,70	95,00
VCM (fL) M3	83,57	3,23	83,90	75,30	91,40

M1: momento um (antes da suplementação); M2: momento dois (após seis semanas de suplementação); M3: momento três (após outras seis semanas sem suplementação); IMC: índice de massa corporal; CC: circunferência de cintura; MM: massa magra; MG: massa gorda; ACT: água corporal total; QFA: questionário de frequência alimentar; E: energia total; CHO: carboidrato; LIP: lipídeo; PTN: proteína; Vit.: vitamina; Mg: magnésio; P: fósforo; Zn: zinco; Ca: cálcio; CT: colesterol total sérico; TG: triglicérides sérico; VLDL: VLDL colesterol (very low density lipoprotein); LDL: LDL colesterol (low density lipoprotein); HDL: HDL colesterol (high density lipoprotein); PCR: proteína C reativa; UIBC: capacidade latente de ligação de ferro; CL: concentração de leucócitos; Hb: hemoglobina; VCM: volume corpuscular médio; cm: centímetro; kg: quilograma; m²: metro quadrado; %: porcentagem; kcal: quilocaloria; g: grama; mg: miligrama; µg: micrograma; dl: decilitro; ml: mililitro; fL: fentolitro.

10. Resultados apresentados pelos indivíduos do Cluster 2

Tabela 5 – Análise descritiva dos dados apresentados pelos indivíduos do Cluster 2

Variável	Média	Desvio Padrão	Mediana	Mínimo	Máximo
Idade no M1	11,44	0,96			
Altura (cm) M1	154,16	7,95	152,90	139,60	175,90
Altura (cm) M2	154,87	7,91	153,55	139,90	176,40
Altura (cm) M3	155,53	7,81	153,70	141,20	176,70
Peso (kg) M1	59,97	21,68	55,85	29,20	123,15
Peso (kg) M2	60,57	21,92	56,30	29,30	124,45
Peso (kg) M3	61,27	21,47	56,70	30,25	124,80
IMC (kg/m ²) M1	24,84	6,95	23,32	14,13	41,25
IMC (kg/m ²) M2	24,86	7,03	23,51	14,25	41,41
IMC (kg/m ²) M3	24,96	6,79	23,23	14,62	39,97
CC (cm) M1	83,94	20,27	85,00	43,60	127,40
CC (cm) M2	86,41	18,76	86,50	57,60	130,00
CC (cm) M3	86,44	17,50	87,00	58,60	129,90
MM (% peso) M1	70,16	7,22	68,11	60,34	39,57
MM (% peso) M2	70,13	6,69	68,61	60,20	39,80
MM (% peso) M3	69,96	6,80	69,00	59,05	40,94
MG (% peso) M1	29,77	7,23	31,78	18,50	81,36
MG (% peso) M2	29,83	6,70	31,38	19,46	80,53
MG (% peso) M3	29,98	6,81	30,99	19,13	80,73
ACT (% peso) M1	28,82	7,49	27,30	17,10	52,70
ACT (% peso) M2	29,16	7,61	27,10	16,20	52,00
ACT (% peso) M3	29,34	6,97	27,40	17,50	48,50
E (kcal/dia) M1	2072,12	856,56	1918,00	947,00	4720,00
E (kcal/dia) M2	1917,92	981,13	1505,00	860,00	5384,00
E (kcal/dia) M3	1914,72	846,69	1690,00	1078,00	4718,00
CHO (g/dia) M1	262,08	126,38	249,64	109,94	677,99
CHO (g/dia) M2	249,24	128,84	192,60	103,55	549,14
CHO (g/dia) M3	238,94	107,19	201,28	136,77	489,36
LIP (g/dia) M1	80,89	33,65	74,65	36,04	194,01
LIP (g/dia) M2	73,29	46,22	64,05	31,11	261,05
LIP (g/dia) M3	75,15	38,95	65,08	35,15	217,29
PTN (g/dia) M1	73,99	24,88	70,77	34,71	146,94
PTN (g/dia) M2	65,45	38,38	55,26	26,61	210,04
PTN (g/dia) M3	70,77	36,23	58,62	35,68	201,45
Vit. A (µg/dia) M1	351,92	201,46	301,55	72,94	930,06
Vit. A (µg/dia) M2	1038,62	411,24	995,83	600,61	2566,45
Vit. A (µg/dia) M3	358,66	188,49	379,13	93,29	750,47
Vit. D (µg/dia) M1	2,54	2,21	1,58	0,13	8,35

Vit. D (µg/dia) M2	6,07	1,73	5,81	3,41	9,58
Vit. D (µg/dia) M3	2,42	1,46	2,23	0,17	4,99
Vit. E (mg/dia) M1	23,94	12,90	22,24	4,85	46,86
Vit. E (mg/dia) M2	23,37	14,40	18,75	7,38	60,07
Vit. E (mg/dia) M3	18,40	13,14	14,22	2,10	50,20
Vit. C (mg/dia) M1	108,93	89,19	78,13	8,97	326,45
Vit. C (mg/dia) M2	166,14	110,14	113,65	49,23	451,45
Vit. C (mg/dia) M3	99,27	122,01	60,66	14,34	495,04
Folato (µg/dia) M1	89,16	49,76	77,09	23,14	240,30
Folato (µg/dia) M2	260,44	101,05	242,98	140,20	640,94
Folato (µg/dia) M3	88,38	49,33	76,18	12,31	204,60
Vit. B1 (mg/dia) M1	1,29	0,47	1,15	0,45	2,72
Vit. B1 (mg/dia) M2	2,34	0,67	2,36	1,28	3,66
Vit. B1 (mg/dia) M3	1,24	0,50	1,14	0,53	2,77
Vit. B2 (mg/dia) M1	1,45	0,78	1,26	0,44	3,38
Vit. B2 (mg/dia) M2	2,66	0,70	2,78	1,66	3,82
Vit. B2 (mg/dia) M3	1,31	0,56	1,24	0,46	2,88
Vit. B3 (mg/dia) M1	18,36	5,57	17,56	7,89	27,46
Vit. B3 (mg/dia) M2	30,44	8,66	28,18	19,95	58,97
Vit. B3 (mg/dia) M3	16,74	7,05	14,53	5,52	32,60
Vit. B6 (mg/dia) M1	1,31	0,54	1,30	0,43	2,52
Vit. B6 (mg/dia) M2	2,85	0,74	3,09	1,67	4,38
Vit. B6 (mg/dia) M3	1,09	0,46	0,93	0,47	2,22
Vit. B12 (µg/dia) M1	3,13	2,04	2,55	0,85	9,40
Vit. B12 (µg/dia) M2	3,10	1,18	3,09	1,01	5,59
Vit. B12 (µg) /dia M3	2,34	0,94	2,16	0,74	4,47
Ca (mg/dia) M1	629,66	269,98	592,85	306,16	1190,95
Ca (mg/dia) M2	818,11	316,31	704,43	383,28	1645,17
Ca (mg/dia) M3	837,74	1595,11	500,78	180,41	8434,85
Ferro (mg/dia) M1	10,09	5,21	8,79	3,60	28,39
Ferro (mg/dia) M2	15,03	5,59	13,86	6,75	29,83
Ferro (mg/dia) M3	9,66	7,40	7,25	2,93	41,87
Mg (mg/dia) M1	258,51	91,82	244,08	93,22	480,70
Mg (mg/dia) M2	363,87	134,33	332,11	182,83	702,06
Mg (mg/dia) M3	234,57	97,04	201,06	82,08	469,77
P (mg/dia) M1	989,51	344,04	883,34	421,31	1795,66
P (mg/dia) M2	1030,40	419,93	942,22	589,43	2366,95
P (mg/dia) M3	861,15	286,94	791,17	411,77	1457,66
Zn (mg/dia) M1	10,24	4,99	9,81	4,10	27,60
Zn (mg/dia) M2	14,61	5,50	13,48	7,25	33,05
Zn (mg/dia) M3	9,10	3,35	8,52	4,60	16,03
Albumina (g/dl) M1	4,52	0,18	4,50	4,20	4,80
Albumina (g/dl) M2	4,48	0,15	4,50	4,20	4,80
Albumina (g/dl) M3	4,48	0,14	4,50	4,20	4,80
Glicemia (mg/dl) M1	94,56	7,41	95,00	84,00	113,00

Glicemia (mg/dl) M2	95,08	9,09	93,00	81,00	126,00
Glicemia (mg/dl) M3	93,80	6,75	93,00	85,00	113,00
CT (mg/dl) M1	195,40	31,45	204,00	112,00	251,00
CT (mg/dl) M2	180,64	28,64	178,00	119,00	233,00
CT (mg/dl) M3	175,72	29,28	176,00	96,00	232,00
TG (mg/dl) M1	119,32	38,70	110,00	72,00	220,00
TG (mg/dl) M2	159,04	68,08	143,00	82,00	385,00
TG (mg/dl) M3	117,28	54,89	119,00	25,00	234,00
VLDL (mg/dl) M1	23,84	7,75	22,00	14,00	44,00
VLDL (mg/dl) M2	31,76	13,67	29,00	16,00	77,00
VLDL (mg/dl) M3	23,56	10,87	24,00	5,00	47,00
LDL (mg/dl) M1	129,80	27,41	127,00	62,00	180,00
LDL (mg/dl) M2	108,24	29,33	104,00	27,00	151,00
LDL (mg/dl) M3	112,08	26,01	104,00	54,00	165,00
HDL (mg/dl) M1	41,80	10,16	41,00	28,00	66,00
HDL (mg/dl) M2	40,60	11,03	38,00	26,00	68,00
HDL (mg/dl) M3	40,20	9,85	38,00	26,00	60,00
PCR (mg/dl) M1	0,24	0,23	0,18	0,02	0,99
PCR (mg/dl) M2	0,46	0,65	0,20	0,01	2,77
PCR (mg/dl) M3	0,68	1,56	0,26	0,02	7,87
UIBC (mg/dl) M1	263,96	23,26	264,00	228,00	310,00
UIBC (mg/dl) M2	257,32	32,55	259,00	210,00	350,00
UIBC (mg/dl) M3	267,36	34,74	276,00	197,00	330,00
Ferro (µg/dl) M1	81,24	20,75	82,00	49,00	117,00
Ferro (µg/dl) M2	69,36	24,25	76,00	14,00	109,00
Ferro (µg/dl) M3	80,40	29,43	75,00	29,00	146,00
CL (células/ml) M1	7,63	2,04	7,50	4,19	11,60
CL (células/ml) M2	7,85	2,58	7,39	2,95	12,70
CL (células/ml) M3	7,83	2,51	7,26	4,71	13,00
Hb (g/dl) M1	13,73	0,92	13,80	12,30	15,40
Hb (g/dl) M2	13,61	0,95	13,60	12,20	15,80
Hb (g/dl) M3	13,86	0,74	13,70	12,60	15,60
VCM (fL) M1	82,90	5,32	82,90	71,00	93,70
VCM (fL) M2	84,22	5,68	84,20	71,10	94,60
VCM (fL) M3	81,11	5,13	80,80	69,80	90,90

M1: momento um (antes da suplementação); M2: momento dois (após seis semanas de suplementação); M3: momento três (após outras seis semanas sem suplementação); IMC: índice de massa corporal; CC: circunferência de cintura; MM: massa magra; MG: massa gorda; ACT: água corporal total; QFA: questionário de frequência alimentar; E: energia total; CHO: carboidrato; LIP: lipídeo; PTN: proteína; Vit.: vitamina; Mg: magnésio; P: fósforo; Zn: zinco; Ca: cálcio; CT: colesterol total sérico; TG: triglicérides sérico; VLDL: VLDL colesterol (very low density lipoprotein); LDL: LDL colesterol (low density lipoprotein); HDL: HDL colesterol (high density lipoprotein); PCR: proteína C reativa; UIBC: capacidade latente de ligação de ferro; CL: concentração de leucócitos; Hb: hemoglobina; VCM: volume corpuscular médio; cm: centímetro; kg: quilograma; m²: metro quadrado; %: porcentagem; kcal: quilocaloria; g: grama; mg: miligrama; µg: micrograma; dl: decilitro; ml: mililitro; fL: fentolitro.

11. Comparação entre a atividade física apresentada por cada cluster

Tabela 6 - Comparação entre as características da atividade física praticada pelos indivíduos do cluster 1 e do cluster 2, avaliados pela análise de ANCOVA (ajustado para idade, gênero e estadiamento puberal). Os resultados estão apresentados em média $\pm$ desvio padrão da média e mediana (valor mínimo – valor máximo).

Variável	Cluster 1 (n = 111)	Cluster 2 (n = 25)	P valor
MET	2,39 $\pm$ 0,51 * 2,30 (1,36 – 3,86)	2,46 $\pm$ 0,58 * 2,37 (1,60 – 3,90)	0,769
Número de Passos	2458,22 $\pm$ 1236,36 2370,00 (4,18 – 6949,00)	2954,69 $\pm$ 1240,37 2521,00 (1164,67 – 5801,00)	0,347
Tempo (minutos)	244,79 $\pm$ 17,51 243,33 (197,00 – 310,66)	246,42 $\pm$ 12,78 246,00 (218,33 – 274,33)	0,223
GET na AF (kcal)	186,63 $\pm$ 118,22 155,33 (21,30 – 680,00)	257,01 $\pm$ 153,13 249,00 (58,00 – 626,00)	0,122
GET (kcal)	437,72 $\pm$ 138,48 401,00 (169,00 – 1049,00)	581,27 $\pm$ 177,35 563,00 (288,00 – 919,00)	0,000

Tempo: Tempo de observação; GET: Gasto Energético Total; GET na AF: Gasto Energético Total durante a atividade física; MET: Equivalente metabólico (unidade utilizada para quantificar a intensidade da atividade física realizada).

* Classificação do nível de atividade física: leve (Pate et al, 2004).

12. Questionário de Classificação Econômica

CRITÉRIO
DE CLASSIFICAÇÃO ECONÔMICA
BRASIL

ABEP
associação brasileira de empresas de pesquisa

O Critério de Classificação Econômica Brasil, enfatiza sua função de estimar o poder de compra das pessoas e famílias urbanas, abandonando a pretensão de classificar a população em termos de “classes sociais”. A divisão de mercado definida abaixo é de **classes econômicas**.

SISTEMA DE PONTOS

Posse de itens

	Quantidade de Itens				
	0	1	2	3	4 ou +
Televisão em cores	0	1	2	3	4
Rádio	0	1	2	3	4
Banheiro	0	4	5	6	7
Automóvel	0	4	7	9	9
Empregada mensalista	0	3	4	4	4
Máquina de lavar	0	2	2	2	2
Videocassete e/ou DVD	0	2	2	2	2
Geladeira	0	4	4	4	4
Freezer (aparelho independente ou parte da geladeira duplex)	0	2	2	2	2

Grau de Instrução do chefe de família

Nomenclatura Antiga	Nomenclatura Atual	
Analfabeto/ Primário incompleto	Analfabeto/ Fundamental 1 Incompleto	0
Primário completo/ Ginasial incompleto	Fundamental 1 Completo / Fundamental 2 Incompleto	1
Ginasial completo/ Colegial incompleto	Fundamental 2 Completo/ Médio Incompleto	2
Colegial completo/ Superior incompleto	Médio Completo/ Superior Incompleto	4
Superior completo	Superior Completo	8

CORTES DO CRITÉRIO BRASIL

Classe	Pontos
A1	42 - 46
A2	35 - 41
B1	29 - 34
B2	23 - 28
C1	18 - 22
C2	14 - 17
D	8 - 13
E	0 - 7

PROCEDIMENTO NA COLETA DOS ITENS

É importante e necessário que o critério seja aplicado de forma uniforme e precisa. Para tanto, é fundamental atender integralmente as definições e procedimentos citados a seguir.

Para aparelhos domésticos em geral devemos:

Considerar os seguintes casos
Bem alugado em caráter permanente
Bem emprestado de outro domicílio há mais de 6 meses
Bem quebrado há menos de 6 meses

Não considerar os seguintes casos
Bem emprestado para outro domicílio há mais de 6 meses
Bem quebrado há mais de 6 meses
Bem alugado em caráter eventual
Bem de propriedade de empregados ou pensionistas

Televisores

Considerar apenas os televisores em cores. Televisores de uso de empregados domésticos (declaração espontânea) só devem ser considerados caso tenha(m) sido adquirido(s) pela família empregadora.

Rádio

Considerar qualquer tipo de rádio no domicílio, mesmo que esteja incorporado a outro equipamento de som ou televisor. Rádios tipo walkman, conjunto 3 em 1 ou microsystems devem ser considerados, desde que possam sintonizar as emissoras de rádio convencionais. Não pode ser considerado o rádio de automóvel.

Banheiro

O que define o banheiro é a existência de vaso sanitário. Considerar todos os banheiros e lavabos com vaso sanitário, incluindo os de empregada, os localizados fora de casa e os da(s) suite(s). Para ser considerado, o banheiro tem que ser privativo do domicílio. Banheiros coletivos (que servem a mais de uma habitação) não devem ser considerados.

Automóvel

Não considerar táxis, vans ou pick-ups usados para fretes, ou qualquer veículo usado para atividades profissionais. Veículos de uso misto (lazer e profissional) não devem ser considerados.

Empregado doméstico

Considerar apenas os empregados mensalistas, isto é, aqueles que trabalham pelo menos 5 dias por semana, durmam ou não no emprego. Não esquecer de incluir babás, motoristas, cozinheiras, copeiras, arrumadeiras, considerando sempre os mensalistas.

Note bem: o termo empregados mensalistas se refere aos empregados que trabalham no domicílio de forma permanente e/ou contínua, pelo menos 5 dias por semana, e não ao regime de pagamento do salário.

Máquina de Lavar

Considerar máquina de lavar roupa, somente as máquinas automáticas e/ou semiautomática
O tanquinho NÃO deve ser considerado.

Videocassete e/ou DVD

Verificar presença de qualquer tipo de vídeo cassete ou aparelho de DVD.

Geladeira e Freezer

No quadro de pontuação há duas linhas independentes para assinalar a posse de geladeira e freezer respectivamente. A pontuação será aplicada de forma independente:

Havendo geladeira no domicílio, independente da quantidade, serão atribuídos os pontos (4) correspondentes a posse de geladeira;
Se a geladeira tiver um freezer incorporado – 2ª. porta – ou houver no domicílio um freezer independente serão atribuídos os pontos (2) correspondentes ao freezer.

As possibilidades são:

Não possui geladeira nem freezer	0 pt
Possui geladeira simples (não duplex) e não possui freezer	4 pts
Possui geladeira de duas portas e não possui freezer	6 pts
Possui geladeira de duas portas e freezer	6 pts
Possui freezer mas não geladeira (caso raro mas aceitável)	2 pt

OBSERVAÇÕES IMPORTANTES

Este critério foi construído para definir grandes classes que atendam às necessidades de segmentação (por poder aquisitivo) da grande maioria das empresas. Não pode, entretanto, como qualquer outro critério, satisfazer todos os usuários em todas as circunstâncias. Certamente há muitos casos em que o universo a ser pesquisado é de pessoas, digamos, com renda pessoal mensal acima de US\$ 30.000. Em casos como esse, o pesquisador deve procurar outros critérios de seleção que não o CCEB.

A outra observação é que o CCEB, como os seus antecessores, foi construído com a utilização de técnicas estatísticas que, como se sabe, sempre se baseiam em coletivos. Em uma determinada amostra, de determinado tamanho, temos uma determinada probabilidade de classificação correta, (que, esperamos, seja alta) e uma probabilidade de erro de classificação (que, esperamos, seja baixa). O que esperamos é que os casos incorretamente classificados sejam pouco numerosos, de modo a não distorcer significativamente os resultados de nossa investigação.

Nenhum critério, entretanto, tem validade sob uma análise individual. Afirmarções freqüentes do tipo “... conheço um sujeito que é obviamente classe D, mas

pelo critério é classe B...” não invalidam o critério que é feito para funcionar estatisticamente. Servem porém, para nos alertar, quando trabalhamos na análise individual, ou quase individual, de comportamentos e atitudes (entrevistas em profundidade e discussões em grupo respectivamente). Numa discussão em grupo um único caso de má classificação pode pôr a perder todo o grupo. No caso de entrevista em profundidade os prejuízos são ainda mais óbvios. Além disso, numa pesquisa qualitativa, raramente uma definição de classe exclusivamente econômica será satisfatória.

Portanto, é de fundamental importância que todo o mercado tenha ciência de que o CCEB, ou qualquer outro critério econômico, não é suficiente para uma boa classificação em pesquisas qualitativas. Nesses casos deve-se obter além do CCEB, o máximo de informações (possível, viável, razoável) sobre os respondentes, incluindo então seus comportamentos de compra, preferências e interesses, lazer e hobbies e até características de personalidade.

Uma comprovação adicional da conveniência do Critério de Classificação Econômica Brasil é sua discriminação efetiva do poder de compra entre as diversas regiões brasileiras, revelando importantes diferenças entre elas

RENDAS FAMILIAR POR CLASSES

Classe	Pontos	Renda média familiar (Valor Bruto em R\$)
		2010
A1	42 a 46	12.926
A2	35 a 41	8.418
B1	29 a 34	4.418
B2	23 a 28	2.565
C1	18 a 22	1.541
C2	14 a 17	1.024
D	8 a 13	714
E	0 a 7	477

13. Aparelho medidor da atividade física (“Body Bugg”)